



Sortir de sa niche ancestrale : conséquences pour les interactions trophiques, le cas du chêne pédonculé et sessile

Benjamin Yguel

► To cite this version:

Benjamin Yguel. Sortir de sa niche ancestrale : conséquences pour les interactions trophiques, le cas du chêne pédonculé et sessile. Biodiversité et Ecologie. Université Rennes 1, 2012. Français. NNT : . tel-00793651

HAL Id: tel-00793651

<https://theses.hal.science/tel-00793651>

Submitted on 22 Feb 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

pour le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Biologie

Ecole doctorale « Vie Agro Santé »

présentée par

Benjamin Yguel

Préparée à l'unité de recherche UMR 6553 « ECOBIO »
Ecosystème, Biodiversité, Evolution

UFR « Sciences de la Vie et de l'Environnement »

**Sortir de sa niche
ancestrale :
conséquences pour
les interactions
trophiques, le cas du
chêne pédonculé et
sessile**

**Thèse soutenue à Rennes
le 11 décembre 2012**

devant le jury composé de :

Christopher Baraloto
Directeur de recherche, INRA, Kourou/ *rapporteur*

Martin Schädler
Directeur de recherche, / *rapporteur*

Joan Van Baaren
Professeur, université de Rennes1 / *examineur*

Carlos Lopez-Vaamonde
Chargé de recherche, INRA, Orleans / *examineur*

Nicolas Mouquet
Directeur de recherche, université Montpellier 2 /
examineur

Colin Fontaine
Post-doctorant, museum national d'histoire naturelle /
examineur

Manuel Plantegenest
Enseignant-chercheur, Agrocampus-Ouest /
examineur

Andreas Prinzing
Professeur, université de Rennes1/ *directeur de thèse*

Hervé Jactel
Directeur de recherche, INRA, Bordeaux/ *co-directeur
de thèse*

Remerciements

Mes remerciements vont tout d'abord à Andreas et Hervé pour ces 3 années (ou presque) passées sous leurs directions. Ils m'auront permis d'acquérir les bases scientifiques et techniques nécessaires à l'accomplissement de cette thèse. Plus particulièrement, merci à Andreas pour m'avoir fait découvrir la phylogénie des communautés, discipline passionnante, pour m'avoir permis de bénéficier de son expérience, tout au long de la thèse, et en particulier lors des phases de rédactions et de resoumissions, qui sont particulièrement stratégiques, et qui ont parfois été difficiles. Merci à Hervé d'avoir accepté de co-encadrer ma thèse et de suivre mon travail à distance, pour nos réunions éclair, mais diablement constructive et enrichissante, pour m'avoir permis de rencontrer, discuter et de travailler avec différents chercheurs, toujours passionnés et passionnants, que ce soit en entomologie ou en foresterie plus généralement. Encore merci à tous les 2 pour votre patience et votre disponibilité tout au long de ma thèse. Enfin, merci encore à mon tuteur, Denis Poinso.

Je tiens à remercier sincèrement Christopher Baraloto, Martin Schädler, Joan Van Baaren, Carlos Lopez-Vaamonde, Nicolas Mouquet, Colin Fontaine et Manuel Plantegenest pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens aussi à remercier le CNRS et le conseil régional de Bretagne pour avoir financé ce travail.

Un grand merci à Frédéric pour son soutien, son humour et sa gentillesse sur le terrain, au labo comme après le travail. Ta compagnie et ton aide m'ont permis de survivre à certaines grosses journées de terrain à rallonges ! Bien sûr, merci à toute l'équipe écologie de la diversification, Marie Hermant, Françoise Hennion et Emmanuel Billard, qui m'ont accueilli pendant ces 3 ans, et, en particulier à Amaury et Elisa, qui m'ont accompagné et aidé pendant leurs stages.

Un immense merci à tous les chercheurs, ingénieurs, doctorants ou post doctorants qui m'ont encadré et/ou aidé durant ma thèse, souvent bénévolement et toujours avec beaucoup de gentillesse: à Orléans, Alain Roques pour sa participation aux comités de thèses, en Norvège, Richard Bailey, pour son soutien et son aide lors de la rédaction des manuscrits, à Toulouse, Aude Vialatte, pour son soutien et sa participation aux comités de thèse ainsi qu'à sa collaboration à mon premier manuscrit, à Bordeaux, Xavier Vitrac pour l'extraction et le dosage des polyphénols, Didier Bert, pour la partie dendrochronologie, Christelle Péré pour la vérification des déterminations de mineurs, à Paris, Claire Villemant pour la formation accélérée en montage (sur paillette) et détermination des parasitoïdes de lépidoptères, en Suisse, Pierre Emmanuel Courty, pour les « analyses mycorhiziennes » et pour les nombreuses discussions par mails interposés, à Rennes, Mickael

Monvoisin, Nicolas Jannault, Frank Muratet et Alain Le Mouillour de l'ONF pour leurs aides et leur soutien, indispensable pour travailler en forêt de Rennes.

A l'université de Rennes 1 dans l'ordre chronologique, un énorme merci à Marie-Paul Briand pour les analyses C/N, Nathalie Josselin pour la mise à disposition du matériel et les manip de broyage, Guillaume Bouger pour les nombreux dépannages informatiques, Abdelkader et Malika Aïnouch pour la mise à disposition du matériel et pour la formation concernant l'extraction d'ADN de chêne, Eric Petit pour l'analyse des données microsatellites, Armel Salmon pour les discussions scientifiques pendant les pauses cigarettes, et pour ses conseils. Merci encore à Valérie Briand, Jocelyne Beven, Sandra Rigaud, Fabienne Defrance, Valérie Haubertin, Tifenn Donguy pour leurs gentillesse et leurs soutiens bibliographiques, techniques ou administratifs indispensables. Merci plus généralement à toutes les personnes avec qui j'ai pu interagir et discuter pendant ma thèse, de mes résultats ou non, avec une pensée particulière pour Benjamin, Mohannad, Damien, Cécile, Pierre, Julie, Benoit, Vincent, Diab, Chloé, Thiago, l'ensemble du couloir du 2^{ème} étage et des fumeurs du bâtiment 14A.

Churchbells ringing in town

-The caterpillar

In the grass

J. Kerouac (1956)

Merci mille fois à ma famille pour son soutien quotidien et sa confiance, tout au long de mes études, et, en particulier pendant ma thèse. RIEN n'aurait été possible sans vous.

Enfin, je tiens à remercier tout particulièrement mi compañera, qui depuis presque 6 ans, et plus particulièrement pendant cette thèse, me supporte quotidiennement (ainsi que le climat français), dans tous les sens du terme. Merci pour tous ces moments, que ce soit en week-ends, en voyages, en concerts, autour d'une partie de carca, entre autres, passés en ta douce compagnie.

Sommaire

I.	Introduction	1
a.	Cadre théorique : Conservatisme de niche et sortie de niche ancestrale : conséquences pour la structure phylogénétique du voisinage	1
a.1-	Conservatisme de niche : conséquences pour la structure phylogénétique du voisinage	1
a.2-	Sortir de sa niche : conséquences sur la structure phylogénétique du voisinage	4
b.	Conséquences de l'isolement phylogénétique du voisinage pour les interactions biotiques	5
b.1	Conservatisme phylogénétique des interactions : plus la distance phylogénétique entre espèces est grande, moins ces espèces partagent d'ennemis ou de mutualistes	6
b.2	Isolement phylogénétique du voisinage : conséquence pour les interactions biotiques	7
c.	Objectifs et hypothèses développés dans la thèse : Etudes des conséquences d'une sortie de niche ancestrale sur les interactions biotiques du chêne au sein de la chaîne trophique	10
II.	Effet de l'isolement phylogénétique de la plante hôte sur les phytophages : « Phytophagy on phylogenetically isolated trees : why host should escape their relatives »	14
	SUPPORTING INFORMATION OF CHAPTER II	36
III.	Effet de l'isolement phylogénétique sur les parasitoïdes et prédateurs des phytophages : « Enemy release of insect herbivores on phylogenetically isolated trees: why phytophages should follow plants escaping their relatives? »	52
	SUPPORTING INFORMATION OF CHAPTER III	78
IV.	Effet de l'isolement phylogénétique sur les mutualistes: «A mouse may be of service to a lion: Mutualist support host colonizing a new neighborhood»	103
	SUPPORTING INFORMATION OF CHAPTER IV	125
V.	Discussion générale	146
a.	Bilan pour le chêne sortant de sa niche et de son voisinage phylogénétiquement proche	146
b.	Conséquences pour le conservatisme de niche d'une espèce végétale: dans quelles situations va-t-il être fort, ou faible ?	150
b.1	Effet du rapport entre phytophages, ennemis des phytophages et compensation par les mycorhizes	150
b.2	Effet de la spécialisation des phytophages et de leurs ennemis	151
c.	Apport pour la sylviculture et perspectives appliquées	153
d.	Perspectives pour les questions d'écologie évolutive	156
d.1.	Conséquences écologiques non étudiées d'une sortie de niche ancestrale pour le chêne	156
d.2	Conséquences évolutives non étudiées d'une sortie de niche ancestrale du chêne	158
	Conclusion et perspective générales	162
	Bibliographie de l'introduction et de la discussion	163
	Petit glossaire	171

Annexe de l'introduction et de la discussion	173
Annexe 4 : Signatures pour autorisation de publication et soutenance	192

Résumé

Le conservatisme phylogénétique de niche se définit par la conservation, au cours du temps, de la niche écologique et des traits écologiques associés. Des espèces phylogénétiquement proches auront alors tendances à occuper des niches similaires, incluant des conditions abiotiques mais aussi des interactions biotiques similaires. Ainsi, un individu isolé phylogénétiquement de ses voisins, pourrait être considéré comme présent dans une nouvelle niche. Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés aux interactions trophiques des individus de plantes hôtes colonisant une nouvelle niche, représentée par un voisinage phylogénétiquement éloigné, à la différence des individus hôtes restant dans leur niche ancestrale. Nous avons étudié plus particulièrement le cas du chêne et de ses phytophages, de leurs ennemis naturels, et enfin, des ectomycorhizes du chêne. Nos résultats indiquent que l'isolement phylogénétique des chênes hôtes (i) diminue l'abondance des phytophages et leurs pressions sur le chêne, (ii) diminue la pression des ennemis spécialistes sur ces phytophages, (iii) augmente l'abondance et l'activité des ectomycorhizes du chêne. Ainsi, l'isolement phylogénétique du chêne modifie l'intensité et la nature des interactions biotiques tout au long de la chaîne trophique à laquelle il appartient. Plus généralement, nos résultats permettent de discuter dans quelles situations une sortie de niche sera favorisée et dans quelles situations, une sortie de niche sera contrariée. Ces résultats suggèrent que les chênes phylogénétiquement isolés, mais aussi leurs phytophages et leurs mycorhizes, subissent des pressions de sélection particulières qui pourraient être à l'origine d'une différenciation évolutive à long terme.

Mots-clés : écologie, évolution, niche écologique, chaîne trophique, phylogénie, chêne, macro-évolution

Abstract

Niche conservatism is defined as the conservation of the niche and its associated ecological traits over time. Thus, phylogenetically closely related species tend to occupy similar niches, including abiotic conditions but also biotic interactions. Hence, individuals surrounded by phylogenetically distantly related species could be considered as inhabitant of new niche. In this thesis we were interested in trophic interactions of host individuals inhabiting a new niche, represented by distantly related neighbours, as compared to hosts remaining in their ancestral niche. We studied oak hosts and their phytophages, the next trophic level, i.e. the oak phytophages and their natural enemies, and finally the ectomycorrhizal fungi of oaks. Our results showed that phylogenetic isolation of oak hosts (i) decreases abundance and pressure of phytophages on oak hosts, (ii) decreases enemy pressure of specialized enemies on oak phytophages, (iii) increases ectomycorrhizal fungi abundance and activity. Hence, our results indicate that phylogenetic isolation of oaks changes the intensity and the nature of biotic interactions all along the entire trophic chain based on oaks. Our results allow us to discuss the biotic forces that favor or impede the colonization of a new niche. Moreover, we suggest that phylogenetically isolated oaks, their phytophages and their ectomycorrhizal mutualists undergo specific selective pressures that could trigger evolutionary differentiation in long term.

Keywords: ecology, evolution, ecological niche, trophic chain, phylogeny, oaks, macroevolution

I. Introduction

Un des objectifs de l'écologie évolutive est de comprendre l'origine et le maintien des adaptations permettant l'occupation d'un nouvel habitat ou à l'inverse de comprendre les raisons d'un échec des processus d'adaptation. Au cours de cette thèse nous nous sommes focalisés sur l'étude des processus écologiques agissant sur une espèce colonisant une nouvelle niche écologique qui pourrait conduire à sa persistance, ou au contraire, à son exclusion. Dans notre cas, nous nous sommes basés sur le concept de conservatisme de niche où une nouvelle niche peut être assimilée à un voisinage d'espèces phylogénétiquement distantes. Nous nous sommes en particulier intéressés aux modifications et au rôle des interactions biotiques au sein de la chaîne trophique dans les processus de sortie de cette niche.

a. Cadre théorique : Conservatisme de niche et sortie de niche ancestrale : conséquences pour la structure phylogénétique du voisinage

a.1-Conservatisme de niche : conséquences pour la structure phylogénétique du voisinage

La niche écologique

Afin de définir le conservatisme de niche, nous devons tout d'abord définir le concept de niche écologique. Sans rentrer dans les débats autour de sa première définition qui remonte au début du XX^{ème} siècle et qui est encore discutée à l'heure actuelle (voir Chase et Leibold 2003; Soberon 2007; Holt, 2009; Soberon et Nakamura, 2009), nous utiliserons une définition proche de celle de Hutchinson (1957). La niche écologique d'une espèce peut se définir, comme les conditions abiotiques et les interactions biotiques (i.e. interaction trophique, ou de compétition) qui permettent sa survie, caractérisée par un taux de croissance positif de ses populations, et conditionnent sa répartition (Holt, 2009). Pour certains organismes tels que les parasites, les herbivores, ou les symbiotes, leurs hôtes peuvent être considérés comme leurs environnements biotiques et abiotiques (Wiens et al., 2010).

Le conservatisme de niche

La tendance d'une espèce ou d'une lignée phylogénétique à maintenir, au cours du temps, sa niche écologique, ainsi que les traits écologiques correspondants, a pour nom le conservatisme de niche (Wiens et al. 2004, voir figure 1). Le conservatisme de niche peut donc concerner de très nombreux traits, sur différentes échelles de temps, et impliquer une certaine redondance fonctionnelle au sein de groupes d'espèces proches phylogénétiquement (Wiens et al. 2010). Bien que ce concept puisse paraître trivial, car découlant du mécanisme de transmission des caractères ou hérédité, central dans la théorie de l'évolution, le terme a été inventé en 1991 par Harvey et Pagel. Les premiers articles qui ont fait références sur le sujet datent de la fin des années 1990 et se sont focalisés au départ sur l'étude d'un conservatisme de la niche abiotique (e.g. Peterson et al. 1999; Prinzing et al. 2001). Depuis, ce concept a connu un intérêt croissant dans la communauté scientifique, notamment en biologie de la conservation de par son rôle supposé dans les phénomènes d'extinction (Ricklefs et Latham, 1992) et en biologie évolutive de par son rôle supposé dans les phénomènes de spéciation (Wiens, 2004). Bien que le concept de conservatisme de niche soit toujours discuté, avec de nombreux exemples pour (Lovette et Hochachka, 2006; Kambhampati et Peterson, 2007; Swenson et al. 2007) et contre (e.g. Losos, 2003; Kergoat et al., 2007; Swenson et al. 2007; Kursar et al., 2009), l'analyse des différentes études sur le sujet indique que la présence ou non d'un conservatisme de niche dépend des traits étudiés, des échelles temporelles et spatiales considérées ainsi que du test utilisé (Swenson et al. 2007; Losos, 2008; Peterson, 2011). De façon prévisible, le conservatisme de niche aurait tendance à disparaître avec le temps (Peterson, 2011) et l'éloignement phylogénétique. Les causes du conservatisme de niche sont multiples. Quatre ont principalement été identifiées (Wiens, 2004; Wiens et Graham, 2005) : (i) le manque de variabilité des traits (e.g. tolérance à des conditions abiotiques), (ii) une fitness des individus plus élevée dans la niche ancestrale, (iii) une pléiotropie antagoniste, i.e. des traits augmentant la fitness dans la nouvelle niche et donc permettant l'expansion de niche, liés génétiquement et négativement à d'autres traits liés à la fitness (e.g. la résistance au froid et la fécondité), et enfin (iv) des flux de gènes importants empêchant une différenciation et une adaptation aux nouvelles conditions locales.

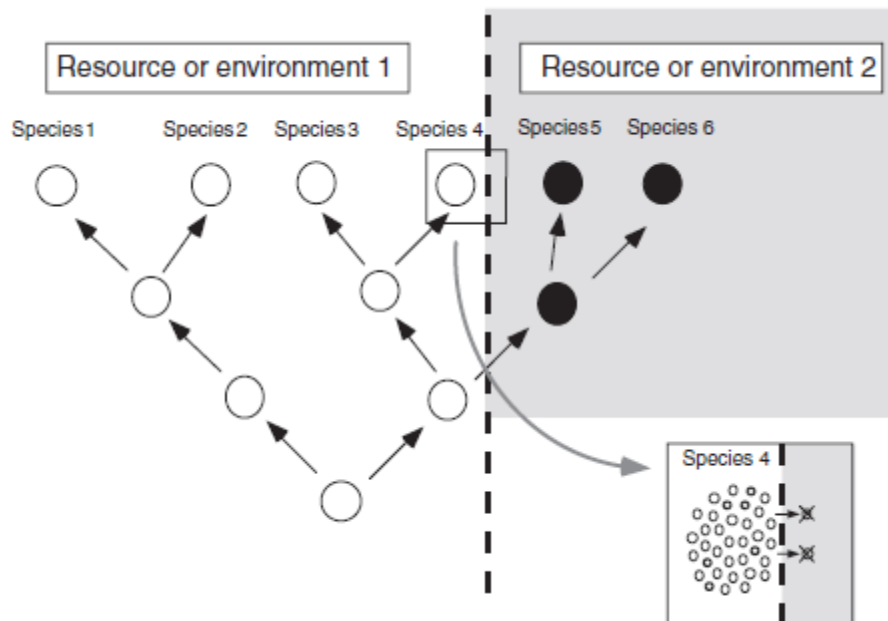


Figure 1. Exemple de conservatisme de niche au sein d'une lignée phylogénétique, chez 6 espèces utilisant 2 environnements ou ressources différentes, tirée de Wiens et al. 2010. Dans l'illustration du bas, on peut voir les individus de l'espèce 4, représentés par des cercles, qui ont une fitness moins importante dans l'environnement 2 ou dans l'utilisation de la ressource 2, conduisant à la disparition de ces individus (i.e. individus barrés). Pour rappel, la fitness est la contribution d'un individu aux générations suivantes et correspondant au nombre de descendants viables et fertiles produits, elle est aussi appelée valeur sélective ou valeur adaptative.

Conservatisme phylogénétique de niche et structure phylogénétique d'un voisinage

Le conservatisme phylogénétique de niche peut avoir des conséquences écologiques importantes, en particulier concernant l'assemblage des communautés. En effet, si les niches écologiques ont tendances à être conservées au sein des lignées phylogénétiques, on aura ainsi tendance à retrouver au sein de niches écologiques identiques ou proches des individus d'espèces phylogénétiquement proche. A l'inverse, des niches écologiques différentes accueilleront des espèces phylogénétiquement éloignées. Le regroupement d'espèces phylogénétiquement proches au sein de communautés sera principalement le résultat d'un effet du filtre environnemental (Webb et al., 2002; Kraft et al., 2007) et d'une diversification des lignées distinctes dans des habitats distincts (Bartish et al., 2010). Plusieurs processus de coexistence peuvent modifier cette relation simple entre proximité des conditions de niche et distance phylogénétique entre espèces. Le regroupement d'espèces phylogénétiquement proche dans une niche peut nécessiter un conservatisme de niche partiel ou faible (Mayfield et Levine, 2010). En effet, le maintien d'une diversité fonctionnelle importante au sein d'espèces phylogénétiquement proches, par exemple,

permettrait un relâchement des effets de compétition (Prinzing et al. 2008). De même, la compétition pourraient aussi être responsable d'une sous dispersion phylogénétique, si les espèces les plus compétitrices appartiennent à une même lignée phylogénétique. Des espèces phylogénétiquement éloignées et moins compétitrices seraient donc exclues, par exemple, des espèces incapables d'être en position de compétition dominante pour la lumière (Mayfield et Levine, 2010). La coexistence entre des espèces compétitrices apparentées serait facilitée par des subtiles différences dans les niches occupées. Cependant, dans le cas d'un trop fort conservatisme de niche entre espèces apparentées aboutissant à une forte redondance fonctionnelle, une trop forte compétition peut se mettre en place et des espèces phylogénétiquement proches auront tendance à s'exclure mutuellement du fait de l'utilisation de ressources identiques. Cela peut aboutir à une « sur-dispersion phylogénétique » des lignées dans la communauté (Lovette et Hochachka, 2006). Néanmoins, l'échelle spatiale considérée peut être très importante. En effet, il est possible d'observer un regroupement d'espèces phylogénétiquement proches à l'échelle régionale ou à l'échelle du paysage, et une « sur-dispersion phylogénétique » à l'échelle locale où la compétition serait la plus intense (Lovette et Hochachka, 2006). Ainsi, l'assemblage des communautés peut résulter d'un conservatisme phylogénétique de niche seul ou interagissant avec d'autres forces, tels que la compétition, mais pas obligatoirement.

a.2-Sortir de sa niche : conséquences sur la structure phylogénétique du voisinage

La sortie de niche ancestrale

Une sortie de niche ancestrale (aussi appelée déplacement de niche dans Pearman et al. 2008) correspond à tout changement des interactions biotiques et/ou des conditions abiotiques auquel est sujette une espèce dans sa niche ancestrale (voir figure 2). S'il n'existe pas de barrière à la dispersion, certains individus au sein des espèces peuvent sortir de leur niche ancestrale. En effet, des individus d'une espèce peuvent sortir de leur niche ancestrale et persister dans une nouvelle niche grâce à une variabilité importante des traits permettant la persistance dans une nouvelle niche, grâce à une immigration continue depuis la niche ancestrale (Kawecki, 1995) ou encore par une « amélioration » des interactions biotiques telle qu'une diminution de la compétition ou de la prédation dans la nouvelle niche (synthèse et exemples dans Pearman et al. 2008 ; Holt, 2009). Une variabilité des traits permettant l'adaptation aux nouvelles conditions abiotiques et biotiques présentes dans la nouvelle niche pourra être le résultat d'une diversité génétique ou d'une plasticité phénotypique importante (e.g. Zalewski et Bartoszewicz, 2012; Richter et al., 2012). Pour les arbres,

en particuliers, l'adaptation pourrait être lente du fait de leur longue durée de vie, et une forte diversité génotypique entre individus ou une forte plasticité phénotypique pourraient permettre la persistance ou l'adaptation à de nouvelles conditions environnementales (Richter et al. 2012). L'acquisition d'une plus grande diversité génétique peut être le résultat de flux de gènes importants liés à des processus d'hybridations entre espèces proches, comme par exemple dans le cas des chênes *Quercus robur* et *petraea* (Petit et al., 2004), étudiés dans cette thèse.

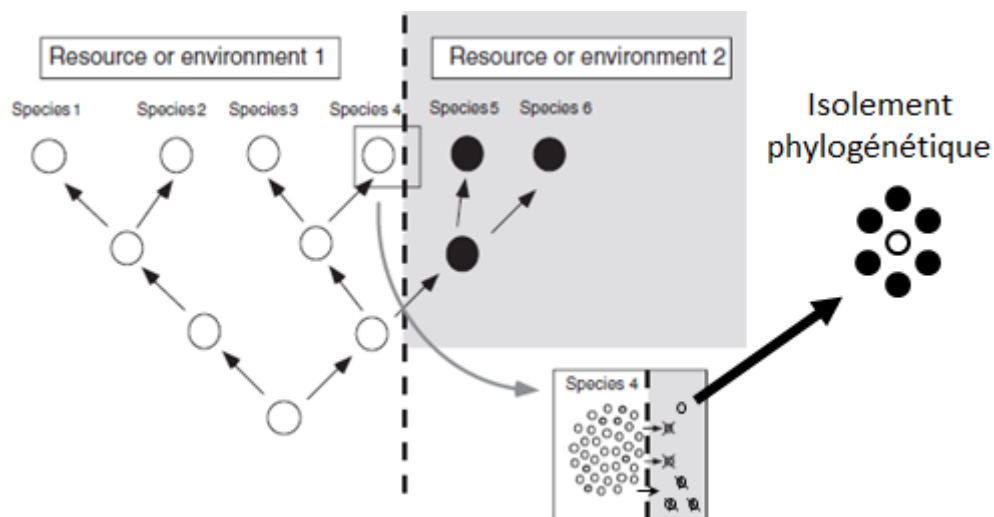


Figure 2. Exemple d'individus de l'espèce 4 sortant de leur niche, se retrouvant ainsi isolés phylogénétiquement par des individus de l'espèce 5 et 6. Alors que la plupart des individus de l'espèce 4 sont contraints de conserver leur niche, certains individus parviennent à sortir de leur niche ancestrale, par exemple, grâce à une dispersion importante vers la nouvelle niche ou grâce à un phénotype particulier.

Conséquence sur la structure phylogénétique du voisinage : isolement phylogénétiquement des voisins

Par conséquent, suivant le concept de conservatisme de niche, les quelques individus qui parviennent à sortir de leur niche ancestrale vont avoir tendance à se retrouver en présence d'un plus grand nombre d'individus d'espèces phylogénétiquement éloignées, ce que l'on appellera un isolement phylogénétique. On peut alors présupposer que plus la nouvelle niche est différente de la niche ancestrale, plus les distances phylogénétiques entre l'individu sortant de sa niche et ses voisins sont importantes, ayant pour conséquence l'augmentation de l'isolement phylogénétique.

b. Conséquences de l'isolement phylogénétique du voisinage pour les interactions biotiques

b.1 Conservatisme phylogénétique des interactions : plus la distance phylogénétique entre espèces est grande, moins ces espèces partagent d'ennemis ou de mutualistes

Outre la présence d'un conservatisme de la niche abiotique (e.g. Peterson et al. 1999, Prinzing et al. 2001), il existe aussi un conservatisme de la niche biotique, autrement dit, un conservatisme des interactions biotiques. Un des cas les plus connus est celui des interactions plante-insectes où des plantes phylogénétiquement proches ont tendance à supporter un cortège d'herbivores similaires et inversement (voir synthèse de Winkler et Mitter, 2008). Ce conservatisme des interactions biotiques a été démontré pour une grande diversité d'interactions au sein de la chaîne trophique (Dalesman et al. 2007; Stouffer et al. 2012), au sein d'interactions mutualistes (Duarte et al., 2011), et plus généralement, à travers l'ensemble des organismes vivants, quel que soit le niveau de spécialisation de l'interaction (Gomez et al., 2010, voir figure 3). Ainsi, si des espèces sont phylogénétiquement éloignées, elles ont tendance à interagir avec des espèces différentes que ce soit au niveau de leurs interactions antagonistes ou mutualistes. Ce conservatisme dans les relations biotiques s'explique principalement par une redondance fonctionnelle entre individus apparentés qui rend plus difficile les interactions avec des organismes phylogénétiquement distants des partenaires habituels. C'est notamment le cas pour les interactions plantes-insectes où des insectes herbivores (principalement spécialistes) auront tendance à se nourrir sur des plantes apparentées partageant des caractéristiques chimiques ou physiques similaires (Winkler et Mitter, 2008). Ce conservatisme d'hôte peut en certains cas expliquer des co-cladogénèses entre plantes et phytophages, avec une diversification de lignées de phytophages en réponse à la diversification de la lignée de leurs plantes hôtes (Menken, et al. 2009).



Figure 3. Représentation du conservatisme des interactions à travers l'ensemble de l'arbre du vivant. En rouge, sont représentés les genres présentant un conservatisme des interactions (i.e. présentant un signal phylogénétique significatif, voir petit glossaire), en bleu, les genres ne présentant pas de conservatisme des interactions (i.e. présentant un signal phylogénétique non significatif) et en noir les genres ne disposant pas de données suffisantes pour réaliser des analyses. Tiré de Gomez et al. 2011.

b.2 Isolement phylogénétique du voisinage : conséquence pour les interactions biotiques

Une sortie de niche, se traduisant par un isolement phylogénétique, pourrait alors affecter les interactions biotiques. En effet, si les espèces ont tendance à conserver leurs interactions trophiques au cours de l'évolution et de ce fait ne pas partager les mêmes ennemis ou mutualistes entre espèces non apparentées, un individu entouré par des espèces phylogénétiquement éloignées

(i.e. phylogénétiquement isolé) ne pourra pas être utilisé par des ennemis ou des mutualistes de ses voisins. Cet individu entouré d'espèces phylogénétiquement éloignées pourrait ainsi connaître une diminution du nombre et de l'importance de ses interactions trophiques. De plus, un individu dont l'environnement est composé de voisins qui sont phylogénétiquement éloignés pourrait être considéré comme un habitat défavorable et ainsi sera évité par ses espèces mutualistes ou par ses ennemis (Kozak et Wiens, 2006). C'est ce que suggère par exemple l'hypothèse de la « resource concentration » dans les relations plantes-insectes (i.e. tendance pour les phytophages chercher les sites où les plantes hôtes sont abondantes et y rester ; Root, 1973) ou de l'hypothèse de l'« associational resistance » (i.e. tendance des phytophages des plantes hôtes dont le voisinage est composé de plantes non-hôtes ; Atsatt et O'Dowd, 1976 ; voir aussi synthèse et exemple dans Agrawal et al. 2006). L'intensité de l'« associational resistance » pourrait dépendre de la distance phylogénétique entre plantes hôtes et non-hôtes (Jactel et Brouckhoff, 2007), et peut s'expliquer par différents mécanismes. Les plantes phylogénétiquement éloignées pourraient agir comme barrière olfactive ou visuelle empêchant la localisation d'une plante hôte voisine par ses phytophages, par exemple via l'émission d'odeurs répulsives ou masquant celle de la plante hôte (e.g. Jactel et al. 2011). Aussi, la colonisation de plantes distantes phylogénétiquement des plantes hôtes « habituelles » diminuerait la fitness des insectes herbivores (Bertheau et al., 2010). Janzen (1968) suggère d'ailleurs que les regroupements dans l'espace de plantes apparentées représenteraient des archipels de ressources de tailles plus ou moins importantes, et plus ou moins isolés dans l'espace en fonction de leurs ressemblances taxonomiques ou physiologiques avec les plantes voisines. Ainsi chaque plante fonctionnerait comme une île océanique dans le temps et dans l'espace pour les insectes se nourrissant à ses dépens (Janzen, 1968). L'isolement phylogénétique pourrait être donc assimilé à un isolement spatial et avoir des conséquences similaires.

L'isolement spatial, notamment étudié dans le cadre de la fragmentation des habitats, est connu pour avoir des conséquences importantes sur les interactions biotiques aussi bien antagonistes que mutualistes, notamment en pouvant diminuer leur diversité et leur importance (e.g. Komonen et al., 2000 ; Fahrig, 2003 ; Tschamtker and Brandl, 2004 ; Dickie et al., 2005, 2007 ; Ghazoul, 2005 ; Muller et Gossner, 2007 ; Kay, 2008 ; Gonzalez et al., 2011 ; Grilli et al., 2012). L'isolement spatial peut affecter plus particulièrement la diversité et l'abondance des espèces spécialistes d'un habitat ou d'une ressource (Gravel et al. 2011), ainsi que les espèces des niveaux trophiques supérieurs, comme les prédateurs (Holt, 1999). De nombreux mécanismes peuvent être responsables de cette diminution de la diversité et de l'importance de ces interactions. Le plus connu est le taux d'immigration, lié aux capacités de dispersion et aux coûts liés à cette dispersion (Bernstein et al. 1991). Ce taux d'immigration peut ainsi diminuer avec l'isolement et entraîner une

baisse de la diversité (MacArthur et Wilson, 1967) et de l'abondance (Jennersten, 1988). L'isolement spatial peut aussi entraîner des effets « Allee », lié à une faible taille ou densité des populations locales, qui conduiront à une diminution de la probabilité d'accouplement et ainsi du taux de reproduction (Groom, 1998). Ainsi, comme l'isolement spatial, l'isolement phylogénétique d'un individu pourrait potentiellement diminuer l'intensité des interactions de cet individu avec ses ennemis et ses mutualistes, en particuliers spécialistes. Aussi, comme l'isolement spatial, l'isolement phylogénétique pourrait diminuer l'intensité des interactions avec ses congénères, diminuant son potentiel de reproduction.

Etude au niveau interspécifique au sein d'une même communauté

L'effet des relations phylogénétiques entre espèces au sein d'une communauté sur les interactions trophiques a déjà été étudié au niveau interspécifique. Ces études se sont notamment intéressées aux relations biotiques qu'entretiennent les plantes avec leurs pathogènes, leurs herbivores ou leurs mutualistes. Gilbert et Webb (2007) ont par exemple étudié la pathogénicité de différentes espèces de champignons sur différentes espèces d'arbres en pépinière et en forêt tropicale, tandis que Pearse et Hipp (2009) ont étudié le niveau d'herbivorie que subissaient différentes espèces de chênes dans un jardin botanique. Ces études ont montré que plus les espèces d'arbres étaient phylogénétiquement proches, plus ils subissaient de dommages provenant des mêmes espèces de champignons ou des mêmes espèces d'insectes herbivores. De nombreuses autres études, toujours au niveau interspécifique, semblent corroborer ces résultats (e.g. Odegaard et al. 2005 ; Dawson et al. 2009 ; Hill et Kotanen, 2009, 2012). La plupart des études se sont focalisées sur un seul type d'interaction (e.g. Odegaard et al. 2005 ; Dawson et al. 2009 ; Hill et Kotanen, 2009, 2012 ; Ness et al. 2011 ; Parker et al., 2012), et très souvent sans caractérisation de l'échelle spatiale à laquelle l'environnement phylogénétique peut agir (Agrawal et al., 2006). De plus, il n'y a pas eu d'étude jusqu'à présent, s'intéressant aux conséquences d'une variation de l'environnement phylogénétique entre individus d'une même espèce sur leurs interactions. Les implications écologiques et les feedbacks évolutifs du phénomène de sortie de niche ancestrale associée à un isolement phylogénétique d'individus restent largement inconnus.

c. Objectifs et hypothèses développés dans la thèse : Etudes des conséquences d'une sortie de niche ancestrale sur les interactions biotiques du chêne au sein de la chaîne trophique

L'objectif de cette thèse a été d'étudier chez une espèce de plante les conséquences d'une sortie de niche ancestrale, dans un voisinage phylogénétiquement éloigné, sur des interactions biotiques à plusieurs niveaux de la chaîne trophique à laquelle cette plante appartient. Comme modèle nous avons considéré le cas des chênes, à l'aide de deux espèces très proches, *Quercus robur* et *Quercus petraea*. Ces deux espèces sont de bons modèles pour répondre à ces questions, tout d'abord car elles supportent une large gamme de variation environnementale (Jensen et Hansen, 2010 ; Bruschi, 2010). De plus, ces deux espèces pouvant s'hybrider (Petit et al., 2004) et supportant un cortège d'antagonistes et de mutualistes extrêmement riche et relativement similaire (e.g. Southwood et al., 2004 ; Leski et al., 2010), dans notre contexte elles pourraient être considérées comme une seule espèce.

Les interactions trophiques des chênes ont été étudiées dans la forêt domaniale de Rennes. Cette forêt gérée est un environnement propice pour étudier des chênes qui se trouvent entourés d'espèces plus ou moins apparentées. En effet, cette forêt permet d'obtenir un gradient d'isolement phylogénétique de chênes important et continu, étant composée de parcelles de chênaie-hêtraies intercalées avec des peuplements de pins, l'ensemble étant mélangé avec d'autres espèces d'arbres appartenant aux angiospermes (e.g. *Castanea sativa*, *Betula pendula*, *Ilex aquifolium*) et aux gymnospermes (e.g. *Chaemocyparis lawsoniana*, *Abies alba*). La figure 4 donne un exemple d'un chêne fortement isolé et faiblement isolé phylogénétiquement. Afin de nous focaliser sur les interactions au sein de la chaîne trophique, les interactions non-trophiques et notamment de compétition ont été standardisées : nous n'avons étudié que des chênes dominés, i.e. en position de compétition défavorable. En effet, en raison d'une vitesse de croissance plus forte du pin en

comparaison au chêne, la grande majorité des chênes en pinède étaient en position de dominés.



Figure 4. Photos représentant à gauche, un arbre peu isolé phylogénétiquement, et, à droite, un arbre fortement isolé phylogénétiquement.

Au sein de la chaîne trophique nous avons ainsi étudié 3 niveaux d'interactions, entre le chêne et ses phytophages, entre ses phytophages et leurs ennemis naturels, et entre le chêne et ses mutualistes mycorhiziens. Nous avons discuté des implications possibles de nos résultats en écologie évolutive, plus particulièrement dans les phénomènes de diversification phénotypique, mais aussi des implications possibles pour la gestion durable des forêts, et notamment le contrôle des ravageurs.

Le chêne et ses phytophages: moins de phytophages et donc moins de phytophagie ? Le cas des larves de lépidoptères

Dans une première partie nous nous sommes intéressés aux interactions entre le chêne et ses phytophages. L'hypothèse principale développée dans cette partie est qu'un isolement phylogénétique conduit à une diminution de l'abondance et de la pression de phytophagie exercée par ces phytophages. En effet, comme expliqué plus haut, il existe un fort conservatisme d'hôte chez

les insectes herbivores (e.g. Basset, 1992 ; Novotny et al. 2002 ; synthèse de Winkler et Mitter, 2008), en particulier chez les lépidoptères (Menken et al., 2009), qui ont ainsi tendance à se nourrir sur des hôtes plus ou moins apparentés, partageant des caractères physiques ou chimiques proches. De ce fait, une plante hôte entourée d'espèces séparées par des dizaines de millions d'années d'histoire évolutive, pourrait connaître une réduction de l'abondance de ses phytophages et de leur phytophagie. Nous nous sommes principalement intéressés au cas des lépidoptères ectophages mais nous avons aussi étudié les cas de phytophages encore plus spécialisés, tels que les mineuses et les insectes gallicoles (voir annexe 1). Outre leur conservatisme d'hôte(s) fréquent, les lépidoptères ectophages sont reconnus pour être un modèle facile à étudier, en particulier en environnement fragmenté, de par leurs taux de génération court, leurs petites tailles et leurs facilités d'échantillonnage à l'état larvaire (dans Metacommunities, 2005, Holyoak, Leibold and Holt, p. 100), caractéristiques en partie partagées par les mineuses et les insectes gallicoles.

Les phytophages et leurs ennemis: relâchement de la pression des ennemis sur les phytophages ? Le cas des larves de lépidoptères, de leurs ennemis spécialistes (les parasitoïdes) et généralistes (les oiseaux)

Dans une seconde partie, nous avons étudié l'effet de l'isolement phylogénétique d'un chêne sur les pressions de parasitisme et de prédation exercées sur ces phytophages du chêne. L'hypothèse principalement développée dans cette partie est que l'isolement phylogénétique d'une plante hôte aboutirait à une perte des niveaux trophiques supérieurs et ainsi à une diminution de la pression de prédation ou de parasitisme exercées sur les phytophages. Nous nous sommes focalisés en particulier sur le parasitisme et la prédation aviaire exercés sur les larves de lépidoptères ectophages. Nous avons aussi étudiés le parasitisme subi par des phytophages plus spécialisés, les insectes gallicoles.

Le chêne et ses champignons mutualistes: perte ou augmentation des mutualistes et de leurs fonctions ? Le cas des ectomycorhizes et de leurs activités enzymatiques

Enfin, dans une troisième et dernière partie, nous nous sommes intéressés aux interactions entre le chêne et ses mutualistes. Nous avons étudié l'effet de l'isolement phylogénétique sur l'abondance et l'activité des ectomycorhizes du chêne. Nous nous sommes en particulier intéressés aux activités enzymatiques liées à la dégradation de la litière permettant la mobilisation de carbone nécessaire au débourrement du chêne au printemps. En effet, un conservatisme d'hôte chez les mutualistes pourrait, de manière similaire à l'isolement spatial, diminuer l'abondance et l'activité des mycorhizes sur des arbres entourés par des voisins phylogénétiquement éloignés. Au contraire,

l'isolement phylogénétique de l'arbre pourrait entraîner une détérioration des conditions biotiques et abiotiques entraînant ainsi un « soutien » plus important de la part des mutualistes augmentant l'abondance et l'activité des mycorhizes.

Pour terminer, après une synthèse de l'ensemble de ces résultats, nous discuterons de leurs apports pour la compréhension des phénomènes de sortie et de conservatisme de niche, leurs implications possibles dans les phénomènes de spéciation, ainsi que des implications possibles en termes de gestion durable des forêts.

II. Effet de l'isolement phylogénétique de la plante hôte sur les phytophages : « Phytophagy on phylogenetically isolated trees : why host should escape their relatives »

Article publié dans *Ecology Letters*, novembre 2011.

Co-auteurs : Richard Bailey, Aude Vialatte, Denise N. Tosch, Chloé Vasseur, Xavier Vitrac, Frédéric Jean et Andreas Prinzing.

Résumé:

Les hôtes, appartenant à une même espèce, subissent des dégâts liés à leurs ennemis naturels qui peuvent être radicalement différents. Cela a été en partie expliqué par la nature du voisinage de l'hôte, qui peut être caractérisée par sa diversité en espèce d'hôtes ou par un isolement spatial entre hôtes. Cependant, des espèces, voisines spatialement, peuvent être séparées par plusieurs millions d'années d'histoire évolutive, potentiellement réduisant l'établissement d'ennemis naturels et leurs impacts. Nous avons testé si l'isolement phylogénétique de chênes hôtes par rapport aux arbres voisins réduisait la phytophagie. Nos résultats indiquent qu'une augmentation de l'isolement phylogénétique de 100 millions d'années correspond à une diminution de la phytophagie par 10. Ces résultats ne sont pas dus à un appauvrissement des conditions de vie pour les phytophages sur les chênes hôtes phylogénétiquement isolés. Dans notre étude, ni la diversité en espèce ni la distance spatiale au chêne hôte le plus proche n'ont affecté la phytophagie. Nous suggérons que la réduction de la pression de phytophagie pourrait être un avantage important pour les individus d'une espèce d'hôte qui sortent de leur niche ancestrale et qui grandissent parmi des espèces éloignées phylogénétiquement.

Abstract

Hosts belonging to the same species suffer dramatically different impacts from their natural enemies. This has been explained by host neighborhood that is by surrounding host-species diversity or spatial separation between hosts. However, even spatially neighboring hosts may be separated by many million years of evolutionary history, potentially reducing the establishment of natural enemies and their impact. We tested whether phylogenetic isolation of oak hosts from neighboring trees within a forest canopy reduces phytophagy. We found that an increase in phylogenetic isolation by hundred million years corresponded to a ten-fold decline in phytophagy. This was not due to poorer living conditions for phytophages on phylogenetically isolated oaks. Neither species diversity of neighboring trees nor spatial distance to the closest oak affected phytophagy. We suggest that reduced pressure by natural enemies is a major advantage for individuals within a host species that leave their ancestral niche and grow among distantly related species.

Introduction

Most biotic interactions on earth likely occur between hosts and their natural enemies, such as parasites or phytophages. Hosts suffer dramatically different levels of impact from their natural enemies. Plants, for instance, might be virtually untouched by phytophages or severely defoliated (Agrawal et al. 2006; Jactel and Brockerhoff, 2007; Vehviläinen et al., 2007). This variation exists not only between different plant species, but even within a given species some individuals may suffer drastic damage, while others remain untouched (Altieri et al., 1994; Yamamura, 2002). Variation in phytophagy within plant species has been explained by variation in plant traits affecting living conditions on the host plant itself (Nichols-Orians, 1991; Cornelissen and Stiling, 2006) and underlying genetic characters (Tack et al., 2010). Variation of phytophagy within plant species has also been explained by the neighborhood of the host plant such as the richness and species composition of the surrounding plant community (Agrawal et al. 2006; Jactel and Brockerhoff, 2007) or the position of host plants within a landscape. Fragmented landscapes resulting in spatial isolation of hosts may constrain their colonization by insects and lead to depauperate insect communities (Ozanne et al., 2000; Tscharncke and Brandl, 2004). Indeed, spatially isolated plants or patches of plants may not be found by their phytophages, and even if phytophages succeed in finding these isolated resources, they may not be able to establish viable populations.

Isolation of a host from other hosts might not only depend on spatial distance, but also on evolutionary distance, i.e. its phylogenetic isolation. In fact, spatially adjacent hosts may be separated by millions of years of evolutionary history. This phylogenetic isolation may affect establishment of phytophages because most phytophage species are associated with a set of more or less phylogenetically closely related hosts sharing similar physical, chemical or phenological characteristics, rather than a random set of hosts present in their geographic range (Gilbert and Webb, 2007; Gossner et al., 2009). For instance, Brändle and Brandl (2006) found that more than 60% of the central European phytophage insect species are constrained to a single host-tree genus. Feeding on plants distantly related to the phytophage's natural host has been shown to reduce fitness (Bertheau et al., 2010; Rasmann and Agrawal, 2011). Thus, phylogenetically related host plants tend to share a major part of their phytophage communities (Odegaard et al., 2005; Roques et al., 2006; Winkler and Mitter, 2008; Dawson et al., 2009; Gossner et al., 2009). Vialatte et al. (2010) have recently shown that, even within a given host-tree species, phylogenetic isolation of a host tree from its local neighbors decreases the abundance and richness of Heteroptera, some of which are phytophages (although only very rarely causing direct major damage to hosts). Nonetheless the way phytophage communities are assembled does not predict the impact these communities have on

their hosts. Given that different phytophage species cause different types or levels of damages (e.g. Roslin and Salminen, 2008), the level of phytophagy cannot be predicted from abundance or diversity of phytophages *per se*.

At present we only have indirect evidence for a possible role of phylogenetic isolation for variation of phytophagy within plant species (e.g. Rasmann and Agrawal, 2011). In agricultural systems, studies on intercropping demonstrated that enhancing species diversity of crops leads to a decrease in herbivore pressure compared to monocultures (Altieri, 1994; Smith and McSorley, 2000). In forestry, researchers have focused on young trees and demonstrated an effect of diversity or composition of host-tree species on phytophage pressure (Jactel and Brockerhoff, 2007; Vehviläinen et al., 2007; Shaffers et al., 2008). These agricultural or forestry studies, however, did not test explicitly whether plant individuals surrounded by individuals belonging to distantly related species suffer reduced phytophagy. In more natural systems, comparisons have been conducted *between* different host species and not among individuals within a given species. It has been shown that plant species that are closely related to the other species in a local community suffer more damage from pathogens (Gilbert and Webb, 2007). For phytophagy, this phenomenon has only been studied for the specific case of introduced rather than native species (Dawson et al., 2009; Hill and Kotanen, 2009; Pearse and Hipp, 2009).

The canopy of a forest is a continuous stratum where crowns represent long-lived, discrete patches. The degree to which adjacent crowns share their evolutionary history may vary considerably. Indeed, trees within forest canopies can cover very large ranges of phylogenetic isolation from within-species or within-genus to between angiosperms and gymnosperms, and from one generation to more than a hundred million years (for instance oaks vs. pines). The canopy is hence a patchy macroevolutionary landscape ideal for testing the effect of phylogenetic isolation of host-tree individuals on the phytophagy they suffer.

We used oaks as a model system and tested the hypothesis that, within a given host-tree species, phylogenetic isolation from neighboring host trees decreases phytophagy, specifically leaf damage. We compared the effect of phylogenetic isolation from neighbors to that of the two aspects of neighborhood considered so far by most authors previously: species diversity of the surrounding canopy, and spatial isolation from conspecifics. We accounted for multiple environmental or nutritional co-variables affecting living condition on the host tree (microclimate, nutritional quality, canopy structure) to identify whether the effect of phylogenetic isolation on phytophagy can be explained by specific environmental conditions or nutritional conditions, or rather represents a true effect of phylogenetic neighborhood.

Methods:

1. Site description and experimental design

Sampling was carried out in the Forest of Rennes (surface area: 2000 ha), Brittany (France); a forest dating back to at least the twelfth century. As with all forests in Western and Central Europe, this forest is under the influence of human activities, such as wood management and the effects of surrounding agricultural land use. According to the region, European temperate forests are typically composed of indigenous deciduous species such as oak (*Quercus sp.*), beech (*Fagus sylvatica*), hornbeam (*Carpinus betulus*), poplar (*Populus sp.*) and birch (*Betula sp.*), and also native conifers such as pine (*Pinus sp.*) and fir (*Abies sp.*). The Forest of Rennes is split into parcels, mostly managed following the shelterwood cutting system (Borghetti and Giannini, 2001). Each parcel is planted typically either with oak (*Quercus petraea* or *Q. robur*) or pine (*Pinus sylvestris*). As in numerous European temperate forests, the other main tree species in these parcels are *Ilex aquifolium*, *Fagus sylvatica*, *Castanea sativa*, *Ulmus minor*, *Alnus glutinosa*, *Sorbus torminalis*, *Corylus avellana*, *Carpinus betulus*, *Populus tremula*, *Salix caprea*, *Abies alba*, *Rhamnus frangula*, *Tilia cordata*, *Betula pendula*, *Prunus avium*, *Malus sylvestris*, and *Pyrus pyraeaster*. All these species are native to Europe and all were in contact with the focal oaks studied within the forest canopy.

Eighteen ca. 80 year old (in 2006) and 22 ca. 60 year old (in 2010) oaks were chosen for the study, with age estimated from tree circumference at breast height (total mean equal to 93.2 cm [SD=22.4] in 2006 and total mean equal to 62.1 cm [SD=16.7] for 2010) and on information from foresters. Nine pairs of trees in 2006 and eleven pairs of trees in 2010 were chosen, each pair with one tree in a canopy of mainly oak and beech and the other tree in a canopy of mainly pine, plus some Angiosperms. Trees within a pair were close to each other (30 – 150 m apart), and belonged to the same oak species, *Quercus petraea* or *Q. robur* (note that these oak species are closely related and tend to hybridize). Pairs were spread across the entire forest. Such an approach of “blocking” has been recommended to partial out spatially varying environmental impacts (Legendre et al. 2004). In later analyses we found that “pair” did not significantly affect phytophagy (ANOVA, df=8, F=0.880, p=0.565 in 2006 and ANOVA, df=10, F=0.200, p=0.987 in 2010) and thus pooled it with the error term. As expected given the sampling design, we also found that *Q. petraea* vs. *Q. robur*, had no significant impact on phytophagy (ANOVA, df=16, F=2.826, p=0.112 in 2006 and ANOVA, df=20, F<0.001, p=0.992 in 2010).

2. Phylogenetic isolation of focal oaks, species diversity of the canopy and distance to the closest oak

For each focal oak we quantified the mean phylogenetic distance to the neighboring trees with which its crown was in contact (as in Vialatte et al., 2010). The phylogenetic distance is further defined in appendix 1, which also contains a table of the phylogenetic distance between tree taxa used. Overall, mean phylogenetic distance ranged from 5.71 to 106.67 million years in 2006 and from 10 to 125.66 million years in 2010, and varied continuously between these extremes. It has previously been shown that the Angiosperm understory is not a major source of colonists for the Angiosperm canopy (Gossner et al., 2009), therefore the understory (<6 m height) was not included in the estimation of phylogenetic distances (see in appendix table S1.a and S1.b).

We additionally quantified phylogenetic isolation at a larger spatial scale (details in appendix S1). This measure on larger scale led to the same results but was less exhaustive, we hence only present results for phylogenetic distances to the trees in contact.

We calculated the species diversity of the canopy surrounding the focal crowns along with two measures of spatial isolation: distance to the closest oak, and number of oaks in contact with the focal oak. Diversity was measured using one minus the Simpson's diversity index (Rosenzweig, 1995) of tree species in contact with each focal crown. This value ranged from 0.28 to 1 in 2006 and from 0.33 to 0.91 in 2010. Distance to the closest oak ranged from 2.5 m to 18.9 m in 2006 and from 0.70 m to 9.40 in 2010.

3. Assessment of phytophagy

Phytophagy was estimated as leaf damage. Most leaf damage is caused by leaf chewing lepidopteran larvae (Southwood et al., 2004) and almost all leaf damage on oaks is caused prior to August (Rinker and Lowman, p.377, 2004). The majority of important oak defoliators are moths. In decreasing order of abundance, *Tortrix viridana*, *Archips* sp., *hedya nubiferana*, *Orthosia cerasi* and *Conistra erythrocephala* are the most abundant species observed in the field (See appendix S2). *Tortrix viridana* occasionally shows outbreaks, the last being in 2004 the second last in 1999 (Office National des Forêts Pers. com). In 2006, thirty leaves were sampled from each of the 18 crowns between 16th August and 27th September, ten from the top stratum (the highest quarter of the tree, in proximity to the trunk), ten from the lower but exposed stratum (in the outer canopy, with no branches above preventing sun exposure) and ten from a sheltered stratum (typically lower in the canopy, always with branches above reducing sun exposure). Overall, 540 leaves were sampled. In 2010, on each of the 22 crowns, forty leaves were sampled on 15th September, twenty from an upper stratum and twenty from a lower stratum, both strata being sheltered. 880 leaves were sampled.

Leaf damage was estimated with 1x1 cm² dot grid. The percentage of leaf damage was quantified from the number of dots above damaged parts of leaves relative to the number of dots above an entire, undamaged leaf of the same size. The mean percentages of leaf damage per tree ranged from 3% to 34% in 2006 and from 1% to 14% in 2010. The data were normally distributed (Shapiro-Wilk W=0.921, p=0.136 and Kolmogorov-Smirnov d=0.166, p>0.2 for 2006 and Shapiro-Wilk W=0.937, p=0.172 and Kolmogorov-Smirnov d=0.155, p>0.2 for 2010).

Stratum did not significantly affect leaf damage (ANOVA, df=34, F=0.69, p=0.504 in 2006 and ANOVA, df=42, F<0.001, p=0.979 in 2010) and thus we pooled strata and used mean percentage leaf damage per tree in all further analyses.

4. Living conditions on focal trees

We quantified structural, microclimatic and the nutritional characteristics of focal crowns that influence phytophages and hence phytophagy: tree circumference at breast height; position of crowns relative to dominant canopy; surrounding canopy density; and crown size. We measured temperature and humidity during the key months for development of exophagous phytophages (March, April, May). We also studied N concentration, C/N ratio, polyphenols concentration and dry matter content of the leaves. Finally, we measured (in 2010) the bud burst phenology of the trees. Justifications and methodological details for these measurements are given in Appendix 3.

5. Data analysis

Firstly, we tested by univariate linear regression the effect of phylogenetic isolation, tree species diversity and distance to the closest oak on phytophagy. Here and in the following analyses we found the residuals to approach normality and homoscedasticity and we hence used a normal error distribution. Because structural, microclimatic, and nutritional characteristics of focal trees might also affect phytophages, we tested their effects on phytophagy. For continuous variables we used simple linear regression, while for the discrete variable (focal crown position relative to dominant canopy) we used ANOVA. We then included all significant variables as predictive variables in a generalized linear regression model with phytophagy as the dependant variable. We manually excluded independent variables from a complete model (i.e. backward elimination) and manually included independent variables with changing order of inclusion of the variable. In order to resolve problems of colinearity and to determine the most parsimonious model we used the Akaike Information Criterion (AIC) (Johnson and Omland, 2004) applied to all possible combinations of significant variables. The model with the lowest AIC value was chosen. We also applied a stepwise backward regression analysis with $p < 0.05$ as criterion of variable exclusion. We finally conducted a best-subset search across all variables and retained the model that ranks best for AIC and Mallows' Cp. While these two alternative approaches of variable selection have their own shortcomings (Patcheco et al., 2008) we found that they lead to the same major conclusion as our first approach: phylogenetic isolation was the most significant variable in the model retained. We hence only present the results based on the first approach of variable selection. Lastly, we evaluated the predictive quality of the model chosen with a cross-validation test (i.e. Jackknife test). Specifically, we used the leave-one-out test which is applicable with a limited sample size of 18.

All statistical analyses were performed using Statistica Version 9.0 (Statsoft, France) except for the calculation of AIC and for the Jackknife test. AIC of the different models are calculated with R version 2.9.2. The Jackknife test was encoded and performed also on R version 2.9.2. Because results in 2006 and 2010 lead to the same general conclusion, results in 2010 are only presented in the appendix (see in appendix S4).

Results

1. Effect of tree neighborhood on phytophagy: phylogenetic isolation, tree species diversity and distance to the closest conspecific tree

Only phylogenetic isolation of focal oak had a significant effect on phytophagy (df=16; $r^2=0.45$; $t=-3.62$; $p=0.002$). In fact, phylogenetic isolation had strong predictive power: the jackknife test yielded an R^2 of 0.32. No significant relationships were found between phytophagy and either tree-species diversity of the canopy (df=16; $r^2=0.01$; $t=-0.47$; $p=0.638$), nor between distance to the closest oak (df=16; $r^2=0.10$; $t=-1.37$; $p=0.180$; Fig. 1). Because the strong effect of phylogenetic isolation may obscure any effect of host-community diversity or spatial isolation, we also tested the three variables together and we obtained the same result: Only phylogenetic isolation had a significant effect on phytophagy at $p<0.01$ (the effect of the two others variables remained non-significant at $p>0.1$).

2. Effects of living conditions on host trees on phytophagy

Of the structural, microclimatic and nutritional characteristics of the focal tree tested only position relative to dominant canopy ($p=0.009$), mean March temperature ($p=0.013$) and mean April temperature ($p=0.025$) had a significant effect on phytophagy (Table 1). Phytophagy increased with increasing March and April temperature, while being positioned below the dominant canopy decreased phytophagy.

3. Can the effect of Phylogenetic isolation on phytophagy be explained by living conditions?

Focal oak phylogenetic isolation was not correlated with mean March temperature (df=14; $r^2=0.03$; $t=-0.73$; $p=0.472$), or mean April temperature (df=16; $r^2=0.09$; $t=-1.30$; $p=0.211$) but it was strongly correlated with position relative to dominant canopy (df=16; $r^2=0.43$; $t=-3.49$; $p=0.003$). However the AIC value for the model with only phylogenetic isolation as predictive variable is lower (-37.945) than for a model with only position relative to dominant canopy (-35.004) or with both variables (-37.357). Furthermore, in a model with phylogenetic isolation as first variable, position relative to dominant canopy loses its significance ($p=0.268$) whereas in the inverse model phylogenetic isolation as second variable remains significant ($p=0.042$). Hence, we removed position relative to dominant canopy from the model. Moreover, in a model with mean March and April temperatures and phylogenetic isolation as predictive variables, neither temperature remained significant ($p=0.085$ for March and $p=0.620$ for April), thus we retained only phylogenetic isolation to predict the degree of phytophagy.

Discussion

Our study shows that phylogenetic isolation of a host tree strongly reduces phytophagy – more than forty percent of the variance in leaf damage could be explained by phylogenetic isolation alone. To our knowledge this is the first observation that, within a given host species, phylogenetic proximity of host individuals to neighbors can strongly increase phytophagy or any other impact of natural enemies. Few earlier studies analyzed differences among species, focusing on introduced species and found that phylogenetic proximity to a given community of natives may increase leaf damage, but explained variance were comparatively smaller (12-31%, Pearse and Hipp, 2009, Dawson et al., 2009, Hill and Kotanen, 2009). We compare the effect of phylogenetic proximity to multiple alternative drivers of phytophagy and possible correlates of phylogenetic relatedness. We find that, in contrast to phylogenetic isolation, spatial isolation (i.e. the distance to the closest oak) has no significant effect on phytophagy. In addition, tree-species diversity, which is often cited as a factor related to phytophage pressure (e.g. Jactel and Brockerhoff, 2007), has no effect on phytophagy. Phylogenetic isolation of the host tree is likely to provide a better functional description of isolation from the phytophages' point of view. This observation confirms at the scale of host individuals of the same native species within different native local communities what Pearse and Hipp (2009) or Gossner et al. (2009) observed at the scale of alien host species within the same lineage introduced to a new continent. At the continental as well as the local community scale evolutionary proximity is more important than spatial proximity.

Possible limitations of the study

Our study is correlative and other factors that affect phytophagy might change in parallel with phylogenetic isolation. A first potentially important factor is the nutritional quality of the host tree, which may strongly affect phytophagy (e.g. Cornelissen and Sitling, 2006). Does nutritional quality of host trees hence explain the observed decline of phytophagy with phylogenetic isolation? Albeit our measures of nutritional quality in 2006 provide only indirect evidence for the nutritional status of the leaves prior to phytophagy (Methods) we found no significant correlation between phytophagy and any of N concentration, C/N ratio, or dry-matter content in 2010 (i.e. during the peak of phytophages). Beyond these measures of leaf quality, we also studied the effect of sampling “block” (i.e. the pair of oaks sampled) on phytophagy. Block may affect leaf quality via the chemical composition of the soil (Garibaldi et al., 2010). However, again for “block” we found no effect on phytophagy (Methods). Finally, nutritional quality of hosts might be influenced by genotype, which we did not account for explicitly. However, all the oaks studied originate from the same seed mixtures (Office National des Forêts, pers com), i.e. the same genetic origins. Overall, we provide strong evidence that the decrease in phytophagy with increasing phylogenetic isolation of oak hosts is not caused by a decrease in nutritional quality with increasing phylogenetic isolation. A second

factor that may vary in parallel with phylogenetic isolation and that might affect phytophagy is position relative to dominant canopy. We hence accounted for position relative to dominant canopy statistically in 2006 and by selecting only below-canopy trees in 2010. Both approaches clearly indicated that phylogenetic isolation of host trees reduces phytophagy independent of the canopy position of the trees. Finally, a third factor that might vary with phylogenetic isolation is the phenology of budburst. Late bud burst may reduce phytophage abundance (Wesolowski and Rowinski 2008). However, our additional studies in 2010 showed that phylogenetic isolation significantly reduced phytophagy even after accounting for phenology (see appendix S4).

3. Explaining the effect of phylogenetic isolation on phytophagy

How might phylogenetic isolation of hosts affect phytophagy? A first explanation might be that the palatability of surrounding trees for phytophages may decrease with increasing phylogenetic distance from the preferred host species, i.e. from oaks in our study (see also Bertheau et al., 2010). Consequently, an increase in phylogenetic isolation of an oak host may represent a decrease in palatability of surrounding trees. This line of argument requires that the dominant phytophages are neither monophagous nor polyphagous but oligophagous, i.e. species not able to feed on different class or division of host plant. Indeed we found that the distance to the closest oak has no significant effect on phytophagy (see Results and appendix S4) and hence the dominant phytophages are unlikely to be strictly monophagous oak feeders. Regarding the sample of 2010, the abundant moth species show a distinct preference for, but no restriction to, oaks or Fagaceae (Appendix S2). The major agents of phytophagy on oaks in temperate regions are known to be lepidopteran larvae (Southwood et al. 2004; Rinker and Lowman, 2004) and several authors have already shown that most temperate lepidopteran are not polyphagous (Menken et al., 2010) and only rarely switched hosts during their evolution (Winkler and Mitter, 2008). Overall, decreasing palatability of trees in the neighbourhood of phylogenetically isolated oaks is a plausible explanation for decreasing phytophagy on these oaks.

A second explanation for how phylogenetic isolation of hosts reduces phytophagy might be chemical barriers disrupting the olfactory recognition of the host tree by phytophages due to volatiles unrecognised or avoided by the phytophages. The intensity of such a barrier could gradually increase with the phylogenetic distance of neighbouring trees. Indeed, volatiles of trees differ in particular between species belonging to different classes (Huber and Borden, 2001; Zhang et al., 2001). Moreover, a role of olfactory barriers is consistent with the idea that moths, which are by far the dominant phytophages in our study system, use olfactory cues to search their host (in Hämbäck

et al. 2007) whereas butterflies use visual cues. Future research might hence test whether olfactorily orienting insects such as moths are more affected by phylogenetic isolation of their hosts than visually orienting insects like butterflies.

A third explanation for reduced phytophagy on phylogenetically isolated oaks might be decreasing relative impact of highly efficient specialists, being increasingly replaced by less efficient generalists. Given that the spatial scale considered is so small such generalists might “spillover” from distantly related neighbours (Root’s 1973 Resource concentration hypothesis and White and Whitham’s 2000 associational susceptibility hypothesis). However, we did not find such spill-over of generalists: polyphagous species were rare (see appendix S2) and increasing phylogenetic isolation led to a decline in abundance of all exophagous lepidoptera, including polyphagous generalists (see in appendix S2, figure S2).

A final explanation for how phylogenetic isolation reduces phytophagy might be an increase in top-down regulation with increasing phylogenetic isolation of hosts. If natural enemies of phytophages are less affected by phylogenetic isolation of host trees than are the phytophages, then the ratio of natural enemies to phytophages might increase, leading to an additional reduction of phytophage populations. However, in separate studies on heteropteran predators (Vialatte et al., 2010) and on hymenopteran parasitoids (unpublished data) we found no evidence for such an increase in the enemy/phytophages ratio on phylogenetically isolated oaks. We currently have no information on predation by birds which could also be an important aspect of top-down control (Southwood et al., 2004; e.g. Garibaldi et al., 2010). In our study however, bird predation might not vary much: within each pair, the isolated oaks were separated from non-isolated oaks by less than 150 m, which is within the foraging range of many birds.

Implications for moth biology and host seeking behaviour

The observation that trees that are phylogenetically isolated from their neighbors suffer less phytophagy has multiple implications. First, the distance of < 150 m between phylogenetically isolated and non-isolated trees within a pair is considerably less than the maximal dispersal distances of many moths (Dumerle and Mazet, 1985; Yamanaka et al., 2001; Basoalto et al., 2010; Timm et al., 2010) which are the dominant phytophages in our study system. Moreover, the degree of phylogenetic isolation was measured at an even finer scale (i.e. across trees in direct contact with the focal tree; see Methods). Thus, the dominant forest lepidopteran phytophages likely colonize their host tree across very short distances and rarely traverse numerous distantly related host trees,

despite their capacity to do so. Host-seeking behavior of dominant phytophages may thus influence the effect of phylogenetic isolation of hosts on phytophagy.

4. Implications for forest management

A second implication of the strongly decreased phytophagy on phylogenetically isolated trees is that phylogenetically isolating trees from their neighbors may help foresters to control pest insects at a relatively small scale and without applying pesticides. In fact, the effect of the phylogenetic structure of the host-tree community on phytophagy is likely to be more powerful than that of species diversity *per se*. Vehviläinen et al. (2007) already showed that forest diversity is not directly related to phytophage pressure and could not be used in all cases as predictor of phytophagy. However, we do not know whether phylogenetic isolation of host trees still reduces phytophagy during phytophage outbreaks. During outbreaks preferred hosts might be saturated with phytophages and even less preferred but tolerable (e.g. Evans, 2004), phylogenetically distantly related host plants might become colonized by phytophages. Thus, phylogenetic isolation of preferred hosts from their neighbours might no longer be a refuge from phytophagy during phytophage outbreaks.

Evolutionary implications for a host of leaving its ancestral niche

A final implication of decreased phytophagy on phylogenetically isolated host individuals is that for a host tree it might be beneficial to break with niche conservatism (Prinzing et al., 2001), i.e. to leave the inherited ecological niche of its lineage and to approach the niche of distantly related species. Such hosts that explore novel niches likely profit from “enemy release”. A decrease in enemy pressure would allow a host to reinvest the energy used for enemy defense in the inherited niche into other functions, for instance into higher competitiveness. We can speculate that hosts will adapt to the decreased pressure by phytophages (Ackerly, 2003), potentially even leading to ecological para or peripatric speciation in the long term. Overall, these macroevolutionary islands, i.e. hosts surrounded by phylogenetically distant hosts, are temporally released from microevolutionary pressure from enemies.

Our results are consistent with the idea that enemy release is a key force maintaining biological diversity as suggested by Becerra (2007) and Kursar et al. (2009). These authors suggest that enemy pressure triggered recent diversifications of lineages. Once species were released from the enemies of their relatives, closely related species could co-occur within local communities. Here we show that enemy pressure may also trigger the reassembly of major ancient diversifications

within local communities composed of distantly related species (Prinzing et al. 2008). Hence, while in Kursar et al. and Becerra enemy release is achieved by specific chemical defense traits, we show that enemy release is achieved by leaving the ancestral niche and growing next to distantly related species. Interestingly these authors studied pristine, natural environments untouched by man and conclude that coexistence interacts with evolutionary diversification, while we studied man-managed forests in a recently glaciated region and come to the same general conclusion. The specific conclusions, however, are different, possibly reflecting the idiosyncrasies of the study systems such as differences in host specialization of phytophages, in numbers of phytophages, in the strengths of phytophagy and in the strength of host-niche conservatism. For instance, our study system, oaks, are used by many different phytophagous species, the majority of which are not strictly monophagous, and oaks can tolerate different abiotic niches (Gailing et al. 2009). Thus, any change in chemical defense traits might permit oaks to escape only a small portion of their phytophages (Becerra, 2007). Instead, oaks might escape their phytophages by using a new abiotic niche such as the moder-type soil formed by gymnosperm litter. In contrast, plant species that are used by less numerous but more specialized phytophagous species, and that are highly constrained in their use of abiotic niches (for instance due to lower phenotypic plasticity), should be under strong pressure to stay within their ancestral abiotic niche and to diversify defense traits (Agrawal & Futuyma, 2009).

Conclusions

While phylogenetic isolation of host trees is unlikely to be the only factor controlling phytophage pressure, we observed a strong effect of the phylogenetic structure of the host-tree community on phytophagy. We observed this effect within a single host-tree species and at a spatially very fine scale compared to the dispersal ability of the phytophages. The biotic selection pressure on a host may thus change with the evolutionary proximity of the surrounding hosts. This might have consequences in terms of adaptive evolution of a host plant that succeeds in leaving the ecological niche of its ancestors and in approaching the niche of distantly related species. These microevolutionary consequences of macroevolutionary isolation of host individuals within a community merit further investigation.

References:

- Ackerly D.D. (2003). Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *Int. J. Plant Sci.*, 164, S165-S184.
- Agrawal A.A., Lau J.A. & Hamback P.A. (2006). Community heterogeneity and the evolution of interactions between plants and insect herbivores. *Q. Rev. Biol.*, 81, 349-376.
- Altieri M. A. (1994). Biodiversity and Pest Management in Agroecosystems. Food Products Press, New York, p. 185.
- Basoalto E., Miranda M., Knight A.L. & Fuentes-Contreras E. (2010). Landscape Analysis of Adult Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) Distribution and Dispersal Within Typical Agroecosystems Dominated by Apple Production in Central Chile. *Environ. Entomol.*, 39, 1399-1408.
- Becerra J.X. (2007). The impact of herbivore-plant coevolution on plant community structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104, 7483-7488.
- Bertheau C., Brockerhoff E.G., Roux-Morabito G., Lieutier F. & Jactel H. (2010). Novel insect-tree associations resulting from accidental and intentional biological 'invasions': a meta-analysis of effects on insect fitness. *Ecol. Lett.*, 13, 506-515.
- Borghetti M. & Giannini R. (2001). Natural regeneration in Woodland management. *In Encyclopedia of life support systems*. Eolss Publishers.
- Brandle M. & Brandl R. (2006). Is the composition of phytophagous insects and parasitic fungi among trees predictable? *Oikos*, 113, 296-304.
- Cornelissen T. & Stiling A. (2006). Does low nutritional quality act as a plant defence? An experimental test of the slow-growth, high-mortality hypothesis. *Ecol. Entomol.*, 31, 32-40.
- Dawson W., Burslem D. & Hulme P.E. (2009). Herbivory is related to taxonomic isolation, but not to invasiveness of tropical alien plants. *Divers. Distrib.*, 15, 141-147.
- Dumerle P. & Mazet R. (1985). Sexual trapping of tortrix-viridana (Lep, Tortricidae) On a french mediterranean mountain .1. Flight period and dispersal of the insect. *Zeitschrift Fur Angewandte. J. Appl. Entomol.*, 100, 146-163.
- Evans A. (2004). Initial results in measuring hemlock woolly adelgid populations in trees and forests. In: *Forestry across Borders* (eds. Ward JS & Twery MJ). Us Dept Agr, Forest Serv Ne Exptl Stn Radnor, pp. 3-5.

- Futuyma D.J. & Agrawal A.A. (2009). Macroeolution and the biological diversity of plants and herbivores. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106, 18054-18061.
- Gailing O., Vornam B., Leinemann L. & Finkeldey R. (2009). Genetic and genomic approaches to assess adaptive genetic variation in plants: forest trees as a model. *Physiol. Plant.*, 137, 509-519.
- Garibaldi L.A., Kitzberger T., Mazia C.N. & Chaneton E.J. (2010). Nutrient supply and bird predation additively control insect herbivory and tree growth in two contrasting forest habitats. *Oikos*, 119, 337-349.
- Gilbert G.S. & Webb C.O. (2007). Phylogenetic signal in plant pathogen-host range. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104, 4979-4983.
- Gossner M.M., Chao A., Bailey R.I. & Prinzing A. (2009). Native Fauna on Exotic Trees: Phylogenetic Conservatism and Geographic Contingency in Two Lineages of Phytophages on Two Lineages of Trees. *Am. Nat.*, 173, 599-614.
- Hambäck P.A., Summerville K.S., Steffan-Dewenter I., Krauss J., Englund G. & Crist T.O. (2007). Habitat specialization, body size, and family identity explain lepidopteran density-area relationships in a cross-continental comparison. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104, 8368-8373.
- Hill S.B. & Kotanen P.M. (2009). Evidence that phylogenetically novel non-indigenous plants experience less herbivory. *Oecologia*, 161, 581-590.
- Huber D.P.W. & Borden J.H. (2001). Angiosperm bark volatiles disrupt response of Douglas-fir beetle, *Dendroctonus pseudotsugae*, to attractant-baited traps. *J. Chem. Ecol.*, 27, 217-233.
- Jactel H. & Brockerhoff E.G. (2007). Tree diversity reduces herbivory by forest insects. *Ecol. Lett.*, 10, 835-848.
- Johnson J.B. & Omland K.S. (2004). Model selection in ecology and evolution. *Trends Ecol. Evol.*, 19, 101-108.
- Kursar T.A., Dexter K.G., Lokvam J., Pennington R.T., Richardson J.E., Weber M.G., Murakami E.T., Drake C., McGregor R. & Coley P.D. (2009). The evolution of antiherbivore defenses and their contribution to species coexistence in the tropical tree genus *Inga*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106, 18073-18078.
- Menken S.B.J., Boomsma J.J. & van Nieukerken E.J. (2010). Large-scale evolutionary patterns of host plant associations in the Lepidoptera. *Evolution*, 64, 1098-1119.
- Mühlenberg M. (1989). Freilandökologie: 2. Auflage. *UTB. Quelle & Meyer*.

- Nichols-Orians C.M. (1991). The effects of light on foliar chemistry, growth and susceptibility of seedlings of canopy tree to an attine ant. *Oecologia*, 86, 552-560.
- Odegaard F., Diserud O.H. & Ostbye K. (2005). The importance of plant relatedness for host utilization among phytophagous insects. *Ecol. Lett.*, 8, 612-617.
- Ozanne C.M.P., Speight M.R., Hambler C. & Evans H.F. (2000). Isolated trees and forest patches: Patterns in canopy arthropod abundance and diversity in *Pinus sylvestris* (Scots Pine). *For. Ecol. Manage.*, 137, 53-63.
- Pacheco J., Casado S. and Núñez L. (2008). A variable selection method based on Tabu search for logistic regression models. *IEEE Intell. Syst.* Vol 23, 57 -63.
- Pearse I.S. & Hipp A.L. (2009). Phylogenetic and trait similarity to a native species predict herbivory on non-native oaks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106, 18097-18102.
- Prinzing A., Durka W., Klotz S. & Brandl R. (2001). The niche of higher plants: evidence for phylogenetic conservatism. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B-Biol. Sci.*, 268, 2383-2389.
- Prinzing A., Reiffers R., Braakhekke W.G., Hennekens S.M., Tackenberg O., Ozinga W.A., Schaminee J.H.J. & van Groenendael J.M. (2008). Less lineages - more trait variation: phylogenetically clustered plant communities are functionally more diverse. *Ecol. Lett.*, 11, 809-819.
- Rasmann S. & Agrawal A.A. Evolution of Specialization: A Phylogenetic Study of Host Range in the Red Milkweed Beetle (*Tetraopes tetraophthalmus*). *Am. Nat.*, 177, 728-737.
- Rinker and Lowman, 2004, Insect Herbivory in Tropical Forests Chap 18, pp359- 386 In Lowman, M.D., and H.B. Rinker (editors). 2004. *Forest Canopies* (Second edition). Academic Press.
- Root R.B. (1973). Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats - Fauna of collards (*Brassica-Oleracea*). *Ecol. Monogr.*, 43, 95-120.
- Roques A., Auger-Rozenberg M.A. & Boivin S. (2006). A lack of native congeners may limit colonization of introduced conifers by indigenous insects in Europe. *Can. J. For. Res.-Rev. Can. Rech. For.*, 36, 299-313.
- Roslin T. & Salminen J.P. (2008). Specialization pays off: contrasting effects of two types of tannins on oak specialist and generalist moth species. *Oikos*, 117, 1560-1568.
- Schaffers A.P., Raemakers I.P., Sykora K.V. & Ter Braak C.J.F. (2008). Arthropod assemblages are best predicted by plant species composition. *Ecology*, 89, 782-794.

- Smith, H. A., and R. McSorley. 2000. Intercropping and pest management: A review of major concepts. *Am. Entomol.* 46,154-161.
- Southwood T.R.E., Wint G.R.W., Kennedy C.E.J. & Greenwood S.R. (2004). Seasonality, abundance, species richness and specificity of the phytophagous guild of insects on oak (*Quercus*) canopies. *Eur. J. Entomol.*, 101, 43-50.
- Tack A.J.M., Ovaskainen O., Pulkkinen P. & Roslin T. Spatial location dominates over host plant genotype in structuring an herbivore community. *Ecology*, 91, 2660-2672.
- Timm A.E., Geertsema H. & Warnich L. (2010). Population genetic structure of economically important Tortricidae (Lepidoptera) in South Africa: a comparative analysis. *Bull. Entomol. Res.*, 100, 421-431.
- Tscharntke T. & Brandl R. (2004). Plant-insect interactions in fragmented landscapes. *Annu. Rev. Entomol.*, 49, 405-430.
- Vehvilainen H., Koricheva J. & Ruohomaki K. (2007). Tree species diversity influences herbivore abundance and damage: meta-analysis of long-term forest experiments. *Oecologia*, 152, 287-298.
- Vialatte A., Bailey R. I., Vasseur C., Matocq A., Gossner M. M., Everhart D., et al. (2010). Phylogenetic isolation of host trees affects assembly of local heteroptera communities. *Proc. Roy. Soc.* 1-11.
- Wesolowski T. & Rowinski P. (2008). Late leaf development in pedunculate oak (*Quercus robur*): An antiherbivore defence? *Scandinavian Journal of Forest Research*, 23, 386-394.
- Winkler, I. S., and C.Mitter. 2008. The phylogenetic dimension of insect/plant interactions: a summary of recent evidence. Pp. 240–263 in K. Tilmon,ed. Specialization, speciation, and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects. Univ. of California Press, Berkeley, CA.
- Yamamura K. (2002). Biodiversity and stability of herbivore populations: influences of the spatial sparseness of food plants. *Popul. Ecol.*, 44, 33-40.
- Yamanaka T., Tatsuki S. & Shimada M. (2001). Flight characteristics and dispersal patterns of fall webworm (Lepidoptera : Arctiidae) males. *Environ. Entomol.*, 30, 1150-1157.
- Zhang Q.H., Liu G.T., Schlyter F., Birgersson G., Anderson P. & Valeur P. (2001). Olfactory responses of *Ips duplicatus* from inner Mongolia, China to nonhost leaf and bark volatiles. *J. Chem. Ecol.*, 27, 995-1009.

Table 1. Univariate relationships between each structural, microclimatic, and nutritional characteristic of focal trees as predictive variables and phytophagy as dependant variable. Univariate ordinary least squares regressions except “Relative position of focal crown compared to the dominant canopy” which was tested by Anova (the corresponding F value is given instead of t value).

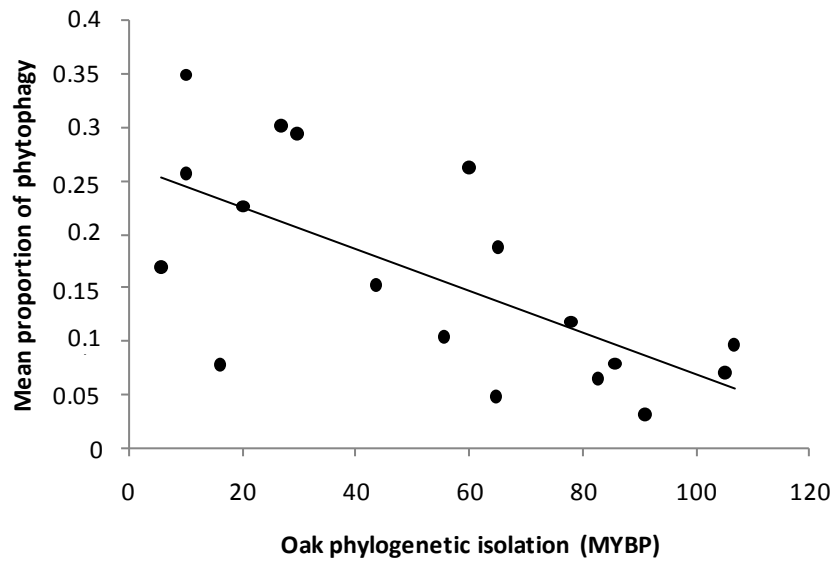
	DF	t	p	r ²
N concentration	15	-1.78	0.095	0.17
C/N	15	1.80	0.090	0.17
Polyphenols concentration	16	-0.45	0.655	0.01
Dry matter content	16	0.43	0.667	0.01
Temperature May	16	0.28	0.780	<0.01
Temperature April	16	2.47	0.025	0.27
Temperature March	14	2.83	0.013	0.36
Humidity May	16	-0.91	0.371	0.05
Humidity April	16	-1.53	0.143	0.12
Humidity March	14	-1.15	0.267	0.08
Tree Circumference	16	1.91	0.073	0.18

Position relative to dominant canopy	16	2.96	0.009	0.35
Canopy density	16	-1.47	0.158	0.12
Crown size	16	0.61	0.545	0.02

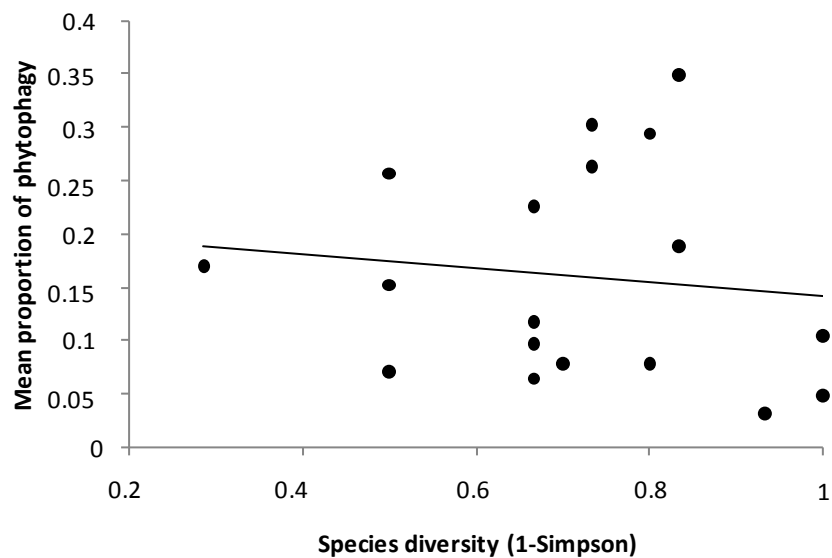
Figure 1. Relationships between phytophagy on focal oaks and (a) phylogenetic isolation from neighboring trees, (b) species diversity of neighboring trees, and (c) the distance to the closest oak. The statistics for these relationships are, respectively, $df=16$; $r^2=0.45$; $t=-3.62$; $p=0.002$, $df=16$; $r^2=0.01$; $t=-0.47$; $p=0.638$ and $df=16$; $r^2=0.10$; $t=-1.37$; $p=0.180$.

Figure 1.

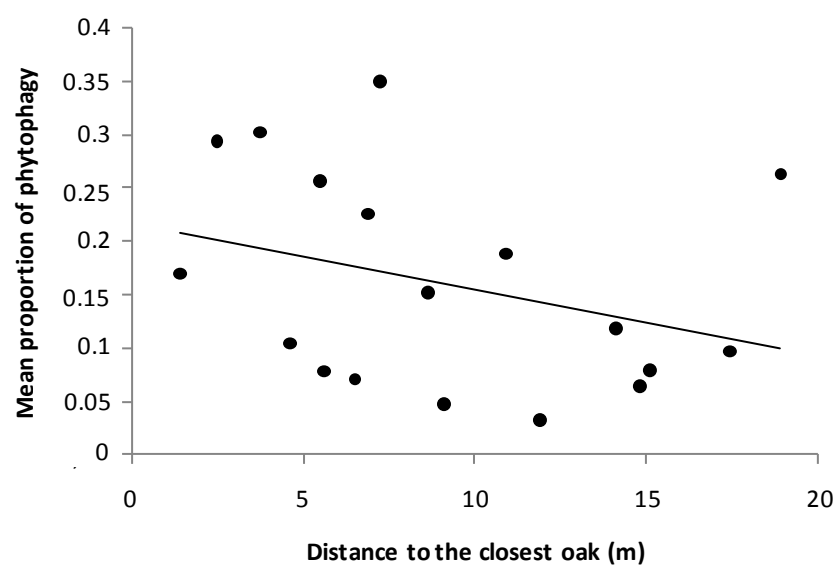
(a)



(b)



(c)



SUPPORTING INFORMATION OF CHAPTER II

Appendix S1. Definition of phylogenetic distance

Appendix S2. Exophagous Lepidoptera: sampling methods, observed species composition and change in abundances with phylogenetic isolation of hosts.

Appendix S3. Quantification of structural, microclimatic, nutritional and phenological characteristics of the crowns.

Appendix S4. Effect of phenology and other variables on phytophagy in 2010

Table S1. Composition of tree neighbourhoods in contact with focal oak trees sampled in 2006 (Table S2.a.) and 2010 (Table S2.b.).

Appendix S1 Definition of phylogenetic distance

Phylogenetic distance is the estimated time (in MYBP) since the evolutionary establishment of the clades of a given neighboring tree species and of oaks. Note that this is not the most recent common ancestor, as this would give pines an extreme weight, given the extreme age of Gymnosperms (probably more than 160 million years older than Angiosperms as we know them today, Savard *et al.*, 1994), and would essentially render our parameter a simple percentage of pines in the surrounding of the oaks. Rather, this is the age when both sister clades had established their particular characteristics as hosts for insects (i.e. crown age and not stem age).

The below table gives phylogenetic distance in million years before present between oak and the other tree species in the communities. Distance corresponds to the smaller of the two crown ages of the two lineages involved (i.e. of oak and of the other tree species) at the corresponding phylogenetic rank (inferred from Magallon *et al.* 1999, Manos *et al.* 1999, Wikström *et al.* 2001, APG 2003, and 2009, Poinar *et al.* 2007). See Methods for further explanations.

Species	Phylogenetic rank of separation with oak						distance
<i>Chamaecyparis</i> sp.	Spermatophytes	-	-	-	-	-	140
<i>Pinus sylvestris</i>	Spermatophytes	-	-	-	-	-	140
<i>Abies</i> sp.	Spermatophytes	-	-	-	-	-	140
<i>Ilex</i> sp.	Angiosperms	Asterids	-	-	-	-	128
<i>Tilia</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Malvids	-	-	-	89.5
<i>Salix caprea</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Malpighiales	-	-	68
<i>Populus tremula</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Malpighiales	-	-	68
<i>Rhamnus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Prunus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Sorbus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Pyrus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Malus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Ulmus minor</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5

<i>Alnus glutinosa</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Corylus avellana</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Betula</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Carpinus betulus</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Fagus sylvatica</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Fagaceae	Fagus	40
<i>Castanea sativa</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Fagaceae	Castanea	40

We additionally quantified phylogenetic isolation at a larger spatial scale. For this we identified trees visible when looking upwards through a standardized quadrat of 50cm x 50cm (Mühlenberg, 1989) at the four cardinal points at 20m distance from the focal oak. This measure on larger scale led to the same results but was a relatively less exhaustive sample (only trees at the focal points were accounted) and did not account for trees in direct contact with the focal crown. We hence only present results for phylogenetic distances between focal oaks and directly neighbouring trees.

References:

- Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* 141, 399–436.
- Angiosperm Phylogeny Group. 2009. "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III", *Botanical Journal of the Linnean Society* **161**: 105–121
- Magallon, S., Crabe, P. R. & Herendeen, P. S. 1999. Phylogenetic pattern, diversity, and diversification of eudicots. *Ann. Missouri Bot. Garden* 86, 1407–1419.
- Manos, P. S., Doyle, J. J. & Nixon, K. C. 1999 Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Mol. Phyl. Evol.* 12, 333–349.
- Poinar, G., Chambers, K. L. & Buckley, R. 2007 *Eoepigynia Burmensis* Gen. and Sp. Nov., an early Cretaceous Eudicot flower (Angiospermae) in Burmese Amber. *J. Bot. Res. Inst. Texas* 1, 91–96.
- Savard L., Li P., Strauss S.H., Chase M.W., Michaud M. & Bousquet J. (1994). Chloroplast and nuclear genes-sequences indicate late Pennsylvanian time for the last common ancestor of extant seed plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 91, 5163-5167.

Wikström, N., Savolainen, V. & Chase, M. W. 2001 Evolution of the angiosperms: calibrating the family tree. *Proc. R. Soc. Lond. B* 268, 2211–2220.

Appendix S2 Exophagous Lepidoptera: sampling methods, observed species composition and change in abundances with phylogenetic isolation of hosts.

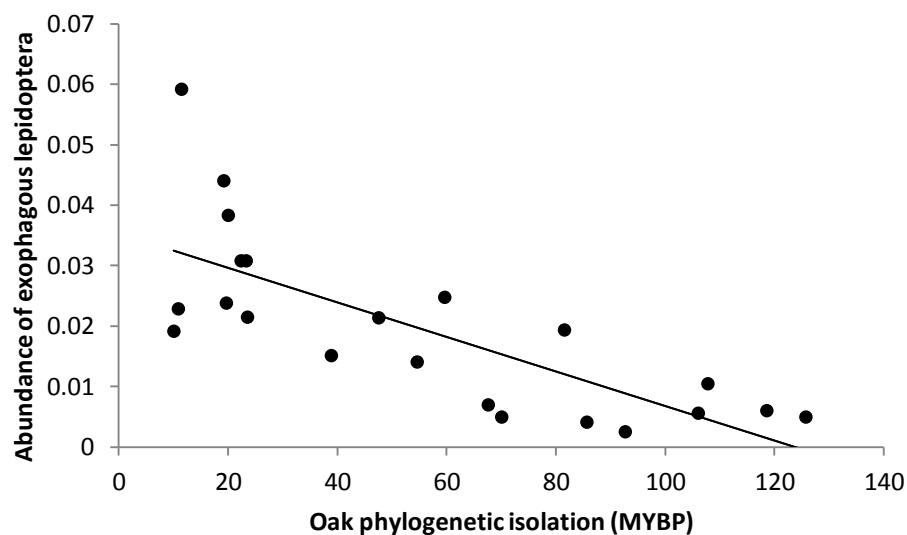
Exophagous lepidoptera were sampled on two different strata, in the lower part and in the middle of the crown. Both strata were sheltered to avoid excessive differences in leaf physical strength or physiology (Feeny, 1970). Two samples of lepidoptera separated by three weeks were collected in order to avoid an effect of time lag in phenology between our focal trees. The first sample was collected just after budburst. In each stratum, one branch with approx. 150 leaves was cut and caught in a 3m² sheet below the crown. Most of the larvae remained attached to the leaves, and were collected separately from all leaves of the branch. Samples of larvae were sorted to morphospecies. To avoid the inherent inaccuracy that may result from using morphospecies (Krell, 2004), we reared the larvae to obtain the imago and photographed the larvae at each instar, in order to avoid common mistakes such as sorting different larval instars to different species. Thereafter, we determined the larvae or imago based on morphological characters when the identification was possible with larvae or imago (Gomez de Aizpurua, 1990; Chinery, 1998; Leraut, 2003). Based on the results of rearing, only two of the 27 morphs, represented by 4 individuals of a total of 179, were unidentified and hence not named as species. Also, the group of *Archips* sp was not discriminated at the species level because of high morphological similarity between the larvae of different species, and high mortality before reaching imago due to parasitism. The abundance of phytophagous larvae corresponded to the number of larvae found on a branch divided by the number of leaves on this branch.” and a table named “S2.a.” including the species composition, abundances and host specialization of exophagous lepidoptera sampled in 2010. Also in this appendix, you will find a figure “S2” that represents the abundance of lepidoperan larvae as a function of phylogenetic isolation of the host tree.

Table S2.a. Species composition, abundances and host specialization of exophagous lepidoptera sampled in 2010. For each species, host specialisation was determined from the literature (Gomez de Aizpurua, 1990; Chinery, 1998; Leraut, 2003) crossed with specialized website (www.leps.it; ukmoths.org.uk; www.hantsmoths.org.uk). Host specialisation group is defined as: Polyphagous =Phytophages feeding on different class or division of host plant, Oligophagous = Phytophages feeding on different host plant order within a same class or different family within a same order, with a distinct preference for host plant genus or family, and Monophagous = Phytophages feeding on one host plant species or one genus.

Species	Family	N individuals	Host- specialisation group
<i>Acrobasis repandana</i> (Fabricius, 1798)	Pyrilidae	3	Monophagous
<i>Aglaia tau</i> (Linnaeus, 1758)	Saturnidae	1	Oligophagous
<i>Agriopsis aurantaria</i> (Hübner, 1799)	Geometridae	7	Oligophagous
<i>Aleimma loeflingiana</i> (Linnaeus, 1758)	Tortricidae	1	Oligophagous
<i>Archips</i> sp.	Tortricidae	42	Oligophagous
<i>Biston strataria</i> (Hufnagel, 1767)	Geometridae	1	Oligophagous
<i>Carcina quercana</i> (Fabricius, 1775)	Oecophoridae	4	Oligophagous
<i>Cyclophora punctaria</i> (Linnaeus, 1758)	Geometridae	1	Monophagous
<i>Ennomos quercinaria</i> (Hufnagel, 1767)	Geometridae	1	Oligophagous
<i>Erannis defoliaria</i> (Clerk, 1759)	Geometridae	1	Oligophagous
<i>Eupithecia abbreviata</i> (Stephens, 1831)	Geometridae	1	Monophagous
<i>Hedya nubiferana</i> (Haworth, 1811)	Tortricidae	18	Oligophagous
<i>Lymantria monacha</i> (Linnaeus, 1758)	Lymantriidae	5	Polyphagous
<i>Operophtera brumata</i> (Linnaeus, 1758)	Geometridae	5	Oligophagous
<i>Orgyia antiqua</i> (Linnaeus, 1758)	Lymantriidae	1	Polyphagous
<i>Orthosia cerasi</i> (Fabricius, 1798)	Noctuidae	18	Oligophagous
<i>Conistra erythrocephala</i> (Denis & Schiffermüller, 1775)	Noctuidae	14	Oligophagous
<i>Orthosia cruda</i> (Denis & Schiffermüller, 1775)	Noctuidae	1	Oligophagous
<i>Phycita roborella</i> (Denis & Schiffermüller, 1775)	Pyrilidae	1	Oligophagous
<i>Polyphoca ridens</i> (Fabricius, 1787)	Drepanidae	2	Monophagous
<i>Spilonota ocellana</i> (Denis & Schiffermüller, 1775)	Tortricidae	1	Oligophagous

<i>Tortrix viridana</i> (Linnaeus, 1758)	Tortricidae	27	Monophagous
<i>Ypsolopha parenthesesella</i> (Linnaeus, 1761)	Ypsolophidae	9	Polyphagous
<i>Ypsolopha ustella</i> (Clerck, 1759)	Ypsolophidae	2	Polyphagous
<i>Zeiraphera isertana</i> (Fabricius, 1794)	Tortricidae	8	Monophagous
<i>Morpho species « B »</i>	??	2	??
<i>Morpho species « Q »</i>	Geometridae	2	??

Figure S2. Abundance of lepidoperan larvae as a function of phylogenetic isolation of the host tree.
Df=20; $r^2=0.56$; $t=-5.09$; $p<0.001$.



References:

- Chinery, M. 1986. *Insectes de France et d'Europe occidentale*, Arthaud, 1998. Flammarion, 2005. Première édition en anglais, 1986.
- Feeny P. (1970). Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology*, 51, 565-581.

Gomez De Aizpurua C. 1990 - Entomologia descriptiva : biologia y morfologia de las orugas : Lepidoptera : Tomo VIII : Oecophoridae - Gelechiidae - Yponomeutidae - Tortricidae - Pyralidae. Madrid : B.Esc. Politécnica. 220 p.

Krell F.T. (2004). Parataxonomy vs. taxonomy in biodiversity studies - pitfalls and applicability of 'morphospecies' sorting. *Biodivers. Conserv.*, 13, 795-812.

Leraut, P. *Le guide entomologique*. Paris : Delachaux et Niestlé, 2003. 527 p. (Les guides du naturaliste, 1022-2707)

Appendix S3 Quantification of structural, microclimatic, nutritional and phenological characteristics of the crowns

Structural characteristics

Structural characteristics of the tree such as canopy connectedness (e.g. Summerville et al., 2003), tree age (Jeffries et al., 2006) or light intensity (e.g. Nichols Orians, 1991) are known to affect living conditions and dispersal of phytophages, and the amount of damage they cause. We hence measured, for each focal tree, the density of the surrounding canopy as a proxy of light intensity, the circumference of the trunk in cm (i.e. girth at breast height) as proxy of tree age, the crown size as a proxy of patch size, and finally the position relative to the dominant canopy (i.e. within/below the canopy) as a proxy of canopy connectedness. Canopy density was measured as the percentage of visible sky looking through a standardized quadrat of 50cm x 50cm at four cardinal points around the focal oak (Mühlenberg, 1989). The crown size corresponds to the distance from lowest to the highest living branch. Because focal crown position relative to the dominant canopy and the circumference of the trunk describe better the canopy connectedness and the age of the trees respectively, these parameters were preferred over simple tree height. All the parameters were measured during summer 2006 and during spring 2010. In 2010 canopy density and the position relative to the dominant canopy were not measured as all trees sampled were situated below the dominant canopy.

Microclimatic characteristics

Temperature and humidity were measured with a sensor placed in the middle of the crown and in a mesh bag under the roof of the flight interception trap used in Vialatte et al. (2010), protected from precipitation as well as sun (DS1923 Hygrochron Temperature/Humidity Logger iButton, 8KB Data-Log Memory), with hourly records, averaged per month. Microclimatic parameters were measured in March, April and May. We took into account these particular months because they are known to play a key role in the development of oak leaves (Visser and Holleman, 2000) and also of their phytophages (Feeny, 1970; e.g. Visser and Holleman, 2000). Measurements were conducted in 2007 and 2010. Measurement in 2006 (i.e. the year of leaf sampling) was not possible for technical reasons. While absolute levels of temperature and humidity have certainly differed between 2006 and 2007, relative microclimatic difference between trees very likely remained constant, given that the canopy structure did not change during that time.

Nutritional characteristics

We measured the percentage of dry matter content, percentage of phenolic compounds, nitrogen (N) concentration and carbon/nitrogen ratio (C/N) of the leaves, i.e. parameters frequently used to characterize the nutritional living conditions of phytophages in tree crowns (Feeny, 1970; Cornelissen and Stiling, 2006). Each leaf was cut longitudinally into two pieces: the one carrying the main central vein was reserved for polyphenol analyses, while the smaller piece was used to measure dry matter content, N concentration and C/N ratio. Measures of dry-matter content were made according to Cornelissen et al. (2003). Measures of C/N were by “flash combustion” conducted using a Carlo Erba NA1500 Series II elemental analyzer in 2006. In 2010, we used a perkin elmer CHN PE 2400. For total phenolics analyses, leaves were frozen and lyophilised (36h). In order to obtain sufficient biological material, the leaves per stratum had to be pooled. Total phenolic compounds measurements were conducted at the Polyphenols Biotech lab, Bordeaux (France), by spectrometry following the Folin-Ciocalteu indices method and expressed as the percentage of dry mass gallic acid equivalent (Singleton et al., 1999). The leaves sampled for phytophagy measurements were also used to determine chemical composition. For technical reasons, these polyphenols measurements were only conducted in 2006.

Phytophagy may change N concentration of damaged leaves and to a lower extent of the surrounding leaves of the same crown (Nykanen and Koricheva, 2004). We thus calculated N and C/N based on undamaged leaves in 2006. We note that this leads to the same conclusions as concentrations calculated across all leaves. Moreover, in 2010, we confirmed these conclusions with leaf measurements taken in early spring, prior to phytophagy (see in appendix S4). Phytophagy might also induce an increase in leaf polyphenol concentration, however this is unlikely in our study system as polyphenol levels in autumn did not correlate to phytophagy (see table 1).

Budburst phenology

The timing of budburst was recorded during 2010 only. Observations started in March while all buds were entirely closed, and continued until the shoots on all sample trees developed small unfolded leaves. Every three days the development of apical leaf buds was assessed on a three-rank scale using binoculars to classify buds (see figure in Wesolowski & Rowinski, 2006). The development stage of 10 apical leaf buds selected in the upper part was assessed. On each occasion, the buds were chosen anew. For each observation day the values for individual buds within a tree were summed to obtain a leaf development score for particular trees (sums ranging from 0-20). After a tree had reached the maximum score, the observations ceased. Our phenology variable was then calculated as the number of days until all 10 buds of a tree are fully open (with 0 set to the date when the first of the 22 trees had fully developed leaves).

References:

- Cornelissen J.H.C., Lavorel S., Garnier E., Diaz S., Buchmann N., Gurvich D.E., et al. (2003). A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.*, 51, 335-380.
- Feeny P. (1970). Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology*, 51, 565-581.
- Jeffries J.M., Marquis R.J. & Forkner R.E. (2006). Forest age influences oak insect herbivore community structure, richness, and density. *Ecol. Appl.*, 16, 901-912.
- Nykanen H. & Koricheva J. (2004). Damage-induced changes in woody plants and their effects on insect herbivore performance: a meta-analysis. *Oikos*, 104, 247-268.
- Singleton V.L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: *Oxidants and Antioxidants, Pt A*. Academic Press Inc San Diego, pp. 152-178.
- Summerville K.S., Crist T.O., Kahn J.K. & Gering J.C. (2003). Community structure of arboreal caterpillars within and among four tree species of the eastern deciduous forest. *Ecol. Entomol.*, 28, 747-757.
- Visser M.E. & Holleman L.J.M. (2001). Warmer springs disrupt the synchrony of oak and winter moth phenology. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B-Biol. Sci.*, 268, 289-294.
- Wesolowski T. & Rowinski P. (2006). Timing of bud burst and tree-leaf development in a multispecies temperate forest. *For. Ecol. Manage.*, 237, 387-393.

Appendix S4 Effect of phenology and other variables on phytophagy in 2010.

Like in the study of 2006, distance to the closest oak and diversity of host community were not significantly correlated with phytophagy (Respectively, $t = -0.62$, $p = 0.540$, $r^2 = 0.01$, $df = 20$, and $t = -0.49$, $p = 0.624$, $r^2 = 0.01$, $df = 20$) while phylogenetic isolation was again significantly correlated with phytophagy ($t = -3.72$, $p = 0.001$, $r^2 = 0.41$, $df = 20$). The variation of phytophagy explained by phylogenetic isolation was 28.51% after a cross-validation test. Concerning the effect of co-variables on phytophagy, there was no significant relationship (see below table S4.a). While phenology was significantly correlated with phylogenetic isolation ($t = 3.14$, $p = 0.005$, $r^2 = 0.33$, $df = 20$), phenology was only marginally significantly correlated to phytophagy (see appendix table S4.a). In addition, in a model with phylogenetic isolation and phenology as predictive variables, phenology did not remain significant ($p = 0.814$) and AIC for this model was higher than for the model with only phylogenetic isolation as predictive variable, (respectively $AIC = -82.804$ and $AIC = -84.738$). Finally in a best subset search including all variables only phylogenetic isolation was retained as a predictive variable for phytophagy.

Table S4.a. Effect of the different co variable on phytophagy in 2010 (see Table 1 for 2006).

Univariate relationships between each structural, microclimatic, and nutritional characteristic of focal trees as predictive variables and phytophagy as dependant variable in 2010.

	DF	t	p	r^2
N concentration	20	1.69	0.105	0.12
C/N	20	-0.64	0.523	0.02
Dry matter content	20	-1.12	0.275	0.05
Temperature May	18	0.29	0.774	<0.01
Temperature April	19	1.18	0.249	0.06

Temperature March	19	0.62	0.536	0.02
Humidity May	20	1.08	0.292	0.05
Humidity April	19	-0.11	0.908	<0.01
Humidity March	19	0.15	0.875	<0.01
Tree Circumference	20	-0.18	0.857	<0.01
Crown size	20	-1.04	0.310	0.05
Phenology	20	-1.96	0.063	0.16

Table S1. Composition of tree neighbourhoods in contact with focal oak trees sampled in 2006 (Table S2.a.) and 2010 (Table S2.b.).

Table S1.a. Composition of host-tree community in contact with focal oak trees sampled in the year 2006. Site column corresponds to individual oak tree. Site A represents a tree “less” phylogenetically isolated and Site B represents a tree “more” phylogenetically isolated.

SITE	<i>Quercus robur</i>	<i>Quercus petrae</i>	<i>Fagus sylvatica</i>	<i>Ulmus minor</i>	<i>Alnus glutinosa</i>	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Prunus avium</i>	<i>Sorbus torminalis</i>	<i>Corylus avellana</i>	<i>Abies alba</i>	<i>Castanea sativa</i>	<i>Pyrus pyraister</i>	<i>Betula pendula</i>	<i>Salix caprea</i>	<i>Ilex aquifolium</i>
B 3.1A	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
B 3.1B	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B 1.1A	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
B 1.1B	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D 3.1A	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D 3.1B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0
D 3.2A	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D 3.2B	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	2	0	0
D 4.1A	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
D 4.1B	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
E 4.1A	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
E 4.1B	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F 2.1A	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0
F 2.1B	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
G 2.1A	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G 2.1B	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H 2.1A	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
H 2.1B	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	1	1

Table S1.b. Composition of host-tree community in contact with focal oak trees sampled in the year 2010. Site column corresponds to individual oak tree. Site .1 represents a tree “less” phylogenetically isolated and Site .2 represents a tree “more” phylogenetically isolated.

SITE	<i>Quercus robur</i>	<i>Quercus petrae</i>	<i>Fagus sylvatica</i>	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Sorbus torminalis</i>	<i>Abies alba</i>	<i>Castanea sativa</i>	<i>Betula pendula</i>	<i>Carpinus betulus</i>	<i>Rhamnus frangula</i>
1.1	2	5	0	0	0	0	0	3	0	0
1.2	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0
2.1	0	2	1	0	0	0	0	1	0	0
2.2	0	1	2	5	0	0	0	1	0	0
3.1	1	0	1	0	0	0	0	2	0	0
3.2	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0
4.1	1	3	2	0	0	0	0	0	1	0
4.2	0	1	0	5	0	0	0	1	0	0
5.1	0	6	4	0	0	0	0	2	0	0
5.2	0	1	6	1	0	0	0	0	0	0
6.1	0	3	0	0	0	1	0	1	0	0
6.2	0	0	0	5	0	0	0	1	0	0
7.1	0	4	0	0	0	0	0	1	0	0
7.2	1	1	1	2	0	0	0	1	3	0
8.1	2	1	1	2	1	0	0	1	0	1
8.2	0	0	0	6	0	0	0	2	0	0
9.1	2	5	0	0	0	0	0	4	0	0
9.2	0	2	2	3	0	0	0	2	0	0
10.1	0	5	2	0	0	0	0	0	0	0
10.2	0	1	1	3	0	0	0	1	0	0
12.1	2	5	0	0	0	0	1	0	0	0
12.2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
13.1	5	1	1	0	0	0	1	0	0	0
13.2	0	1	3	4	0	0	0	0	1	0

14.1	4	2	1	0	0	0	0	4	0	0
14.2	0	0	0	6	1	0	0	3	0	0
X.1	2	1	3	0	0	0	0	0	0	0
X.2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0

III. Effet de l'isolement phylogénétique sur les parasitoides et prédateurs des phytophages : « Enemy release of insect herbivores on phylogenetically isolated trees: why phytophages should follow plants escaping their relatives? »

Manuscrit soumis à *Ecology* le 20 septembre 2012.

Co-auteurs : Richard Bailey, Claire Villemant, Amaury Brault, Hervé Jactel et Andreas Prinzing.

Résumé:

La fragmentation des habitats peut modifier drastiquement la pression des ennemis sur les herbivores. Les fragments sont habituellement considérés comme étant isolés dans l'espace, cependant pour des animaux vivants sur des plantes hôtes, la fragmentation peut résulter de l'isolement phylogénétique d'un hôte vis-à-vis des hôtes voisins. Nous nous sommes intéressés à l'effet de l'isolement phylogénétique d'un arbre hôte sur la pression des ennemis généralistes et spécialistes (i.e. les oiseaux et les parasitoïdes) exercée sur les lépidoptères ectophages. Nos résultats indiquent que l'isolement phylogénétique diminue la pression des ennemis spécialistes sur ces insectes herbivores. La diminution de pression des ennemis résulte de la diminution de la densité des phytophages et ainsi de l'attraction des ennemis spécialistes. Nos résultats impliquent qu'un hôte sortant de sa niche ancestrale, approchant des espèces phylogénétiquement éloignées perd les ennemis de ses ennemis, réduisant ainsi sa fitness et renforçant le conservatisme de niche. Au niveau trophique supérieur, nous suggérons que « l'enemy release » des insectes herbivores atteignant les arbres hôtes phylogénétiquement isolés pourrait éventuellement entraîner une diversification de ces insectes herbivores.

Abstract

Habitat fragmentation may dramatically change enemy pressure on herbivores. Fragments are usually considered to be isolated in space, however for animals living on plant hosts, fragmentation can also result from phylogenetic isolation of their host from neighboring hosts. We investigated the effect of phylogenetic isolation of host trees on pressure exerted by specialist and generalist enemies (parasitoids and birds) on ectophagous Lepidoptera. We found that phylogenetic isolation of host trees decreases pressure by specialist enemies on these insect herbivores. Decreasing enemy-pressure resulted from decreasing phytophage density and hence decreasing attraction of specialist enemies. Our results imply that a host tree that leaves its ancestral niche and hence approaches phylogenetically distant neighbours loses its enemies' enemies, potentially reducing host-tree fitness and reinforcing niche conservatism. At the next trophic level, we suggest that enemy release of insect herbivores reaching phylogenetically isolated hosts might eventually trigger the evolutionary diversification of these insect herbivores.

Introduction

Habitat fragmentation due to spatial isolation or reduced patch size (Fahrig, 2003) is known to alter species abundance and diversity (Ozanne, 2000; Tscharntke and Brandl, 2004). However spatial isolation affects some classes of species more than others. In particular, the “trophic rank hypothesis” (Holt et al., 1999) suggests that species at higher trophic levels, because of their lower population size compared to that of their prey, are affected more strongly by fragmentation and may go extinct more rapidly (e.g. due to Allee effects; Ghazoul, 2005). Thus, the number and diversity of trophic levels should decline with habitat fragmentation (Kay, 2008; Kaartinen and Roslin, 2011). The decline of species from the highest trophic levels such as predators may then release the intermediate trophic level (e.g. insect herbivores) from top-down control (Kruess and Tscharntke, 1994; Komonen et al., 2000; Kondoh, 2003) and this ‘enemy release’ could be detrimental for the lowest levels, for example plants. However some studies have shown the opposite pattern of increasing enemy pressure with increasing habitat fragmentation (Brückmann et al., 2011). This effect has several possible causes. First, specialized enemies often evolve highly efficient host seeking behavior (Agrawal et al., 2006) and are thus capable of finding spatially isolated hosts. Second, generalist enemies, because they can use prey from different habitats, are less affected by fragmentation of one particular habitat (Holt et al., 1999; Tscharntke and Brandl, 2004; Brückmann et al., 2011). Finally, the simplification of food webs caused by habitat fragmentation can decrease intra-guild predation pressure among natural enemies (Montoya et al., 2003), increasing enemy pressure on the intermediate trophic level.

So far, habitat fragmentation has been mainly studied in terms of spatial isolation. However, from the insect-herbivore’s point of view, a host plant can also be isolated from its neighbors by evolutionary history, i.e. by phylogenetic distance. Most insect herbivores tend to use phylogenetically closely related sets of host plants (Futuyma and Agrawal, 2009; Berteau et al., 2010), so that large phylogenetic distances of host plants from their neighbors might act as another isolating mechanism (Vialatte et al., 2010). Indeed, plants isolated from their neighbors by several million years of evolution have been shown to benefit from enemy release from their insect herbivores, even more so than spatially isolated plants (Yguel et al., 2011). However, from the point of view of the next trophic level, while it is known that some parasitoid communities are structured by host plant taxon (e.g. Bailey et al., 2009), it remains unclear to what extent phylogenetic isolation of host plants might affect enemy pressure by predators and parasitoids.

Phylogenetic isolation of host plants might negatively affect enemy pressure on insect herbivores because enemies often use olfactory cues emitted by host plants to locate their prey (Mills, 1993; Dicke and Van Loon, 2000; Rott et al., 2005; Mäntylä et al., 2008), leading to the double difficulty of finding both the prey's host plant and the prey themselves. In such a case, insect herbivores on phylogenetically isolated trees would benefit from enemy release. However, enemy pressure could also increase with phylogenetic isolation of host plants if natural enemies are less constrained by the phylogenetic isolation of plant hosts than the herbivores themselves, for instance due to more effective host-seeking behavior, greater dispersal capacity, less specialized resource use or lower intra-guild predation pressure. Furthermore the presence of phylogenetically distant plant neighbors means higher plant diversity, which can result in higher herbivore diversity across the entire plant community (Castagneyrol and Jactel 2012) thus providing natural enemies with more alternative hosts or prey, enhancing their ability to control herbivores; the so-called "natural enemies hypothesis" (Root 1973). Overall, how enemy pressure on insect herbivores responds to host-plant phylogenetic isolation would depend on both the diet breadth and the foraging capacities of natural enemies compared to those of herbivores.

Here, we investigate enemy pressure of specialist (parasitoids) and generalist (birds) enemies on insect herbivores (ectophagous Lepidoptera) of oak trees. We use a continuous gradient of phylogenetic isolation of individual oaks from their neighboring trees in order to study whether host-tree phylogenetic isolation decreases or increases enemy pressure on insect herbivores. We account for the fact that enemy pressure may also decrease with insect-herbivore density or insect herbivory, which themselves decline with host-tree phylogenetic isolation (Yguel et al., 2011). We therefore use a path analysis approach to investigate whether host-tree phylogenetic isolation affects enemy pressure directly, or indirectly via its effect on insect-herbivore density or insect herbivory. We also account for three possible drivers of insect-herbivore density and rates of parasitism or predation: oak budburst phenology (Rott et al., 2005; Wesolowski and Rowinski, 2008), the diversity of surrounding trees (e.g. Koricheva et al., 2006) and oak spatial isolation (Ozanne et al., 2000).

Methods

Site description and experimental design

Our study was conducted in 2010 and 2011, in the State Forest of Rennes (area: 2000 ha), in Brittany (France; See details in appendix S1). Twenty two c. 60-year-old oaks were chosen for the study, with age estimated according to tree size (mean circumference \pm SD at breast height = 62.1 ± 16.7 cm) and information from local forest managers. We used a pair-wise design, with one oak surrounded mainly by oak and beech, and the other far from any other oak or beech, and mainly surrounded by pines and other evergreen species. A total of 17 tree species were observed in contact with the focal oaks. Trees within a pair were close to each other (30–150 m apart), and belonged to the same oak species, *Quercus petraea* or *Q. robur* (note that these oak species are closely related and can hybridize). Pairs were spread across the entire forest. Such an approach of blocking has been recommended to partial out spatially varying environmental conditions as their impacts are relatively constant within a block (Legendre et al., 2004). Tree pair, or tree species, had no effect on parasitism or on predation rates of insect herbivores and we hence present the effects of pair or species in Appendix S2.

Phylogenetic isolation of host trees within the surrounding canopy

For each focal oak, we quantified its mean phylogenetic distance to all neighboring trees with which its crown was in contact. Phylogenetic distances were extracted from published phylogenies (Appendix 3) following procedures applied previously (Vialatte et al., 2009; Yguel et al., 2011) and using phylogenetic classification (APG, 2009). In the phylogenetic trees, we did not use the stem age (age of common ancestor) separating two tree species, but the younger of the crown ages of the two lineages involved, the age of earliest diversification within lineage. For instance we rank the comparison between oak and pine species as a comparison between two classes, Gymnosperms and Angiosperms, between which the younger is approximately 140 million years old (the crown age of angiosperms), and the phylogenetic distance is hence 140 million years. We opted against stem ages of gymnosperms and angiosperms, because they would give too much weight to the gymnosperm species and because crown age represents biologically the time when the oak lineage and the other lineage started to be physically and physiologically distinct from the point of view of insect herbivores. A table of phylogenetic distances between tree taxa can be found in appendix S3. Overall, mean phylogenetic isolation ranged from 10 to 125.66 million years, and varied continuously between these extremes. It has been previously shown that angiosperm understory is not a major

source of colonists for the angiosperm canopy (Gossner et al., 2009), therefore understory tree species (< 6 m height) were not taken into account for estimating phylogenetic isolation.

Other characteristics of the canopy surrounding focal trees

Because plant community diversity and spatial isolation are known to affect insect predation pressure (Koricheva et al., 2006), we calculated species diversity of canopy trees surrounding the focal oaks and two measures of spatial isolation: distance (in m) to the closest oak. Diversity was calculated using one minus the Simpson's diversity index (Rosenzweig, 1995). The effects of these factors are given in the appendix (S4) as they were not significant predictors of parasitism and predation rates of ectophagous Lepidoptera.

Budburst phenology and other environmental parameters

Because budburst phenology of oaks can strongly influence insect-herbivore density and associated herbivory (Wesolowski and Rowinski, 2008) and hence parasitism rate (Le Corff et al., 2000), we measured budburst phenology in 2010 and 2011. Budburst phenology was measured by scoring the phenological state of 10 random apical buds from the upper layer of the crown every 3 days from 15th march to 31st may. Phenological state corresponds to a three-rank scale described in Wesolowski and Rowinski (2008). Then, we calculated the number of days required to reach a score of 20, corresponding to the maximum score for the 10 apical buds (For more details of the sampling procedure, see Yguel et al., 2011, appendix 3). Multiple other environmental factors potentially influencing parasitism rate or bird predation were measured (crown size, crown volume, surrounding canopy density, temperature and humidity, leaf C/N ratios and dry weight), but were uncorrelated with parasitism or predation rates of ectophagous Lepidoptera and results are therefore presented in appendix S5.

Ectophagous Lepidoptera and their natural enemies

We studied the density and parasitism rates of ectophagous Lepidopteran larvae and the diversity of their insect parasitoids in spring 2010 and 2011. The spring period corresponds to the peak of ectophagous Lepidoptera larval density on oaks (Southwood et al., 2004). As described in Yguel et al. (2011), larvae were sampled twice each year, in early and late spring. The first sample was collected just after budburst of all trees and the second sample was collected three weeks later. Two meters of branches were cut in the upper and lower strata of each tree and larvae were

manually collected from all leaves of cut branches. We sampled 206 larvae from 9739 leaves in 2010 and 203 from 14914 leaves in 2011. The density of ectophagous Lepidopteran larvae was calculated as the number of larvae divided by the number of leaves sampled. In 2010, one tree had one hundred percent parasitism based on a sample with only one larva. This observation was considered as an extreme outlier and was therefore excluded from all analyses. The most abundant species of Lepidoptera were oligophagous (O) or monophagous (M) (in decreasing abundance *Archips* spp. (O), *Tortrix viridana* (M), *Hedya nubiferana* (O), *Orthosia cerasi* (O) and *Conistra erythrocephala* (O) in 2010 and *Archips* sp.(O), *Orthosia cerasi* (O), *Carcina quercana* (O), *Tortrix viridana* (M), *Hedya nubiferana* (O) in 2011) with oligophagous species showing a distinct preference for, but no restriction to, oaks or Fagaceae (See Yguel et al., 2011 for references). All collected larvae were put in petri dishes at ambient temperature in the laboratory and fed every two days with fresh oak leaves until pupation. Ectoparasitoids were recorded directly after leaf-sampling; endoparasitoids were recorded upon emergence from larvae or pupae up to five months after leaf-sampling. Fifty-one larvae were parasitized in 2010 and 67 in 2011. The parasitism rate was calculated as the ratio of the total number of larvae parasitized by endo- and ectoparasitoids to the total number of larvae collected on each tree.

Ninety-four endoparasitoid specimens were identified to species or to morphospecies level. The identification of species is given in appendix S6. Endoparasitoid species richness was not correlated with phylogenetic isolation of focal oaks nor with density of ectophagous Lepidoptera larvae when endoparasitoid density was included as co-variable (appendix S7).

We note that the parasitism rate might be somewhat underestimated in our study. First, some parasitized larvae may not have been recorded as such because larvae or pupae died for other reasons before parasitoids could emerge. However, this error should not bias our results as rearing conditions were identical for larvae from all trees. Second, some larval parasitism can also occur after spring. However, spring is the peak period of larval density on oaks (Southwood et al., 2004) and hence it is the decisive time window for their control by parasitoids.

Bird predation was quantified during spring 2011 using sentinel larvae, i.e. artificial inedible plasticine larvae. Sentinel larvae of two colors and shapes were designed to imitate the most abundant Lepidopteran larvae in our study: sentinel larvae of 3-4 cm length and 3-4 mm diameter were made either in green and with a straight shape (mimicking Tortricidae larvae) or in brown with an omega shape (mimicking Geometridae larvae). Three sentinel larvae of each type were placed randomly on six different branches of each focal oak. Green-straight sentinel larvae were positioned on leaves and brown-omega sentinel larvae were directly positioned on branches. Sentinel larvae were exposed for three weeks between the two samplings of ectophagous Lepidopteran larvae in 2011 (see above). Due to excessive height even of the lowest branches, it was not possible to put

sentinel larvae on two trees. Bird damage was defined as marks of a shape consistent with a bird beak and not explicable by other impacts such as scratching by nearby branches. The presence/absence of such marks on sentinel larvae was recorded every 3 days with a total of four measurements. Damaged sentinel larvae were replaced each time with intact ones, consequently the number of sentinel larvae per tree remained the same during the whole experiment. Bird predation on a given tree was defined as the number of sentinel larvae observed with bird damage, regardless of the amount of bird damage per larva, and summed for the entire period of the survey. Green sentinel larvae were very seldom attacked compared to brown (11 versus 67 times respectively) probably because of their position on the leaves. We therefore only used the number of considered brown sentinel larvae in our analyses. The effect of phylogenetic isolation remains unchanged and non-significant (see Results below) when accounting for green and brown sentinel larvae together.

Insect herbivory

Insect herbivory was measured in autumn 2010 and 2011 as leaf damage. Almost all leaf damage on oaks is caused prior to August (Rinker & Lowman 2004, p. 377). In 2010 and 2011, on each of the 22 crowns, 40 leaves were sampled on 15th September, 20 from an upper stratum and 20 from a lower stratum, both strata being sheltered from direct exposure to the sun. Eight-hundred and eighty leaves were sampled. In both years, leaf damage was estimated with a 1 x 1 cm² dot grid. Percentage leaf damage was quantified as the number of dots covering damaged parts of leaves relative to the number of dots covering an entire, undamaged leaf of the same size. No distinctions were made between feeding guilds (i.e. leaf chewers, leaf skeletoniser, leaf miners). Then we calculated a mean percentage of leaf area damaged across the 40 leaves collected per tree. It ranged from 1 to 14% in 2010 and from 1% to 12% in 2011.

Statistical analysis

Our main objective was to test the effect of phylogenetic isolation on enemy pressure imposed on insect herbivores. For both types of enemy pressure (parasitism and bird predation rate) we applied the following procedure: We firstly tested the effect of phylogenetic isolation, ectophagous Lepidoptera density, insect herbivory and budburst phenology on enemy pressure in simple regression analyses. Then, we used multiple regression analysis to test the direct effect of, phylogenetic isolation, ectophagous Lepidoptera density, insect herbivory and budburst phenology on enemy pressure (all center reduced). We used standardized regression coefficients from this analysis as path coefficients in a path diagram linking phylogenetic isolation to enemy pressure

(Wootton 1994, See appendix S8). Additional simple and multiple regressions were carried out to explain the independent variables in the above multiple regression model and hence estimate coefficients of the remaining direct paths in the path diagram. An indirect effect of phylogenetic isolation on enemy pressure via one intermediate variable was then calculated as the product of the path coefficients of the two compound paths connecting phylogenetic isolation and enemy pressure. The total indirect effect of phylogenetic isolation on enemy pressure was calculated as the sum of all indirect effects. The overall effect of phylogenetic isolation was calculated as the sum of direct and total indirect effects of phylogenetic isolation. We performed numerous additional multiple regression analyses explaining enemy pressure by phylogenetic isolation and different combinations of the above-mentioned co-variables, and we checked whether the above conclusion on the direct effect of phylogenetic isolation remains unchanged (See appendix S9).

2011 differed strongly from 2010: higher parasitism rate, lower density of ectophagous Lepidoptera, earlier phenology and lower herbivory (ANOVA: d.f. =41, $F = 7.20$, $P = 0.01$; d.f. =41, $F = 3.80$, $P = 0.05$; d.f. =41, $F = 8.95$, $P = 4 \times 10^{-3}$; d.f. =41, $F = 3.65$, $P = 0.06$ respectively). We hence analyzed the data of 2010 and 2011 separately. We always found the residuals of our multiple regression analyses to approach normality and homoscedasticity and hence used a normal error distribution.

All statistical analyses were performed using Statistica Version 9.0 (Statsoft, Maisons-Alfort, France).

Results

The parasitism rate in 2010 ranged from 0 to 36%. In simple regression analyses, parasitism rate decreased significantly with increasing host-plant phylogenetic isolation, with decreasing density of ectophagous Lepidoptera, decreasing insect herbivory, and with delayed budburst phenology (See figure 1.a and table.1). In multiple regression analysis, i.e. including all variables, revealed that the direct effect of phylogenetic isolation on parasitism rate was negative (-0.11) but non-significant (See figure 2.a and table 1). This was less than the total indirect effect of -0.51. Among the individual indirect effects of phylogenetic isolation on parasitism rate, the path effect via ectophagous Lepidoptera density was more important than those via insect herbivory or budburst phenology (i.e. -0.58, 0.12 and -0.05 respectively). This is not surprising given the strong effect of phylogenetic isolation on ectophagous Lepidoptera density and the strong effect of ectophagous Lepidoptera

density on parasitism rate (See appendix S8). The overall effect of phylogenetic isolation on parasitism rate was therefore -0.62 in 2010.

The parasitism rate in 2011 varied between 0 and 63%. As in 2010, it declined with increasing phylogenetic isolation of the host plant, with decreasing density of ectophagous Lepidoptera, and with delayed budburst phenology in simple regression analysis. However only phylogenetic isolation had a significant effect on parasitism rate while phenology and ectophagous Lepidoptera density were only marginally significant (see figure 1.b and table 2). In multiple regression analysis, the direct effect of phylogenetic isolation on parasitism rate was negative (-0.17) but non-significant (See figure 2.b and table 1). This was less than the total indirect effect of phylogenetic isolation (-0.30). The indirect effect of phylogenetic isolation via ectophagous Lepidoptera density on parasitism rate was still the most important, but less so than 2010 (-0.12 vs. -0.58). The overall effect of phylogenetic isolation on parasitism rate was -0.47 in 2011.

Bird predation (tested in 2011) was not affected by phylogenetic isolation or by any other variables in simple or in multiple regression analyses (See table 3 and appendix S9). The path analysis was therefore not performed.

Neither parasitism rate nor bird predation was affected by the diversity of surrounding trees or by the distance to the closest oak (See appendix S4 for details).

Discussion

Effect of phylogenetic isolation on enemy pressure

Our results show that, just like spatial fragmentation, phylogenetic isolation of trees can negatively affect the highest trophic levels. However it appears that the magnitude of this effect varies greatly with the degree of specialization of natural enemies. We found that insect herbivores on phylogenetically isolated host oak trees were released from the pressure of specialist enemies, i.e. parasitoids, but not from that of generalist enemies, i.e. birds. The effect of phylogenetic isolation on enemy pressure by parasitoids appears to be even stronger than the effect of spatial isolation of the host or of plant community diversity in simple regression analysis (see Appendix S4). Given that parasitoids might exert a major part of the top-down control of phytophagous insects (Price, 1984) we may speculate that insect herbivores are top-down controlled principally on host trees that are not phylogenetically isolated.

This release of insect herbivores from specialist enemies on phylogenetically isolated host trees resulted from both a direct effect of host-tree phylogenetic isolation on enemies and an

indirect effect mediated via reduced insect-herbivore density, reduced insect herbivory (Yguel et al., 2011) and delayed budburst phenology on phylogenetically isolated trees. This may be partially an effect of positive host-density dependent parasitism rate, which would lead to greater population regulation of herbivores on non-isolated hosts.

We observed a similar pattern of decreasing gall-parasitoid density (i.e. Chalcidoidea) with increasing phylogenetic isolation of oaks, while density of gall hosts increased (See appendix S10).

Limitations of our study

The limited sample size (N=22 trees) and the correlation between phylogenetic isolation, insect herbivory and insect-herbivore density in 2010 (See appendix S8) made it difficult to evaluate their relative importance for parasitism rate of ectophagous Lepidoptera (Petraitis et al., 1996). For instance, the effect of herbivory in 2010 was negative in multiple regression analyses whereas it was positive in simple regression analyses in 2010 and 2011, and in multiple regression analyses in 2011. This variation might, possibly, reflect multicollinearity between variables. The results of the path analysis have hence to be considered carefully. Consequently, to fully identify the relative importance of each factor on parasitism rate, new controlled experiments with a larger sample size and independent manipulation of herbivore density and phylogenetic isolation would be required.

Reduced parasitism rate on phylogenetically isolated trees might also result from changes in species richness or composition of parasitoids. However, the number of sampled parasitoids was too small for testing the effect of richness on parasitism rate independently of density. Additional sampling would be needed to check whether the effect of phylogenetic isolation on parasitism rate could be explained by a change in diversity of specialist enemies.

Why phylogenetic isolation of host plants reduces enemy pressure by parasitoids

For a parasitoid, two characteristics are essential for finding its insect-herbivore host: dispersal capacity and host seeking ability. Parasitoids can disperse over kilometers (Santos et al., 2011) while in our study phylogenetically isolated and non-isolated trees were separated by less than 150 m (see Methods). Thus, dispersal capacity is clearly not a limiting factor. The host-seeking ability of parasitoids is known to be essentially based on chemical cues (Dicke and Van Loon, 2000; Rott et al., 2005; Williams et al., 2007). Particularly, host plant odors, volatile compounds released by damaged leaves (Thaler, 1999) or by insect herbivores themselves are known to attract parasitoids and then to enhance enemy pressure (Du Merle, 1988; Mills, 1993; Dicke and Van Loon, 2000).

Each of these three factors might indeed play a role in our study system. Firstly, from the point of view of parasitoids, a host plant that is phylogenetically isolated is likely to be surrounded by non-suitable hosts. Plant odors released by distantly related hosts may act as a repellent or barrier for parasitoids and hide suitable hosts, as it has already been described for insect herbivores (Jactel et al., 2011). Thus, phylogenetic isolation may have a direct effect on host-seeking by parasitoids independently of the effect of insect herbivore density or insect herbivory. However, the path analysis shows that this direct effect was weaker than the indirect effect in 2010 and 2011. Secondly, the decrease in insect-herbivore density and in insect herbivory, which were caused by phylogenetic isolation of host plants (Yguel et al., 2011), might also have decreased the olfactory attractiveness of the host plant for parasitoids and hence the parasitism rate. Furthermore, seeking of insect herbivores by parasitoids might be facilitated by the spatial clustering of insect hosts (Stireman and Singer, 2003). Clustered groups of hosts may be more easily located than spatially isolated host individuals, and within a group an individual insect herbivore is simple to locate for a parasitoid. The decrease in insect-herbivore density on phylogenetically isolated host trees may have resulted in a reduced clustering of insect herbivores which would then render host finding more difficult for parasitoids. In these latter cases the effect of phylogenetic isolation would be indirect, mediated by a decline in phytophage density and insect herbivory. This is exactly what we observed in 2010 and in 2011. Overall, increasing search costs due to difficulties in locating isolated host plants and sparse and un-clustered herbivore hosts should lead to increased clustering of parasitoids on non-isolated host plants (see also Bernstein et al., 1991).

Why phylogenetic isolation of host plants does not decrease predation pressure by birds

Contrary to parasitoids, bird predation pressure on ectophagous Lepidoptera was not affected by the phylogenetic isolation of host trees. There are several possible reasons for this. Firstly, the foraging range of predatory birds is often longer than the distance separating strongly and weakly phylogenetically isolated trees (i.e. <150m; e.g. in Tremblay et al., 2005). Secondly, given that bird predation was not significantly related to insect herbivory or insect-herbivore density, the bird predators might not have been able to detect olfactory cues emitted by oaks attacked by insect herbivores (Mäntylä et al., 2008). Thirdly, insectivorous forest birds are often less specialized on particular insect herbivore species than insect parasitoids: they were then probably also feeding on insect herbivores living on non-oak trees surrounding the oaks in our experimental site, so that phylogenetically isolated oak trees may not have been perceived by predatory birds as functionally isolated feeding resources.

Implications for pest control

Associational resistance (AR) posits that the identity of surrounding plants may result in lower herbivory on a focal plant (Atsatt and O'Dowd, 1976, Barbosa et al., 2009). One mechanism that has been proposed to explain AR is the natural enemy hypothesis stating that plant diversity can favor the abundance of natural enemies and their effectiveness to control herbivores (e.g. Letourneau, 1987). Here, we show that focal trees surrounded by phylogenetically distant trees experience lower insect-herbivore control by specialist enemies. Phylogenetically isolated host plants or phylogenetically diverse plant communities might hence suffer higher attack by insect herbivores, but only if insect herbivores themselves are not limited by phylogenetic isolation. In our study system, that was probably the case for galls (See appendix S10). In contrast to specialist enemies, generalist predators (e.g. birds) might not be affected by phylogenetic isolation of host trees. Hence, generalist enemies could be more useful than specialist enemies in controlling herbivorous pest insects on phylogenetically isolated host plants, and hence in phylogenetically diverse plant communities. Obviously this requires that such generalist enemies are capable of exerting a top-down control sufficient to reduce pest populations below an economically tolerable level. In consequence, associational resistance of plants due to a phylogenetically diverse ambient community might become associational susceptibility (AS) if insect herbivores are extreme specialists or if their enemies are specialists, as the former are not limited by the phylogenetic distance of the neighbors while the latter are.

Evolutionary implications for phylogenetically isolated host trees and their interacting species

Breaking with niche conservatism by leaving its ancestral niche (Wiens, 2004) can lead to phylogenetic isolation from neighboring species, and hence affect biotic interactions. We show that enemy release for the phylogenetically isolated host plants (Yguel et al., 2011) is transmitted to its insect herbivores that also benefit from a release from their specialist enemies. This transmission of enemy release through the trophic chain may originate from similarities in host seeking behavior between insect herbivores and parasitoids, i.e. attraction by host-plant odors. This effect may be combined with phylogenetic conservatism in host seeking behavior, with closely related insect herbivores or parasitoids seeking closely related host plants and being repelled by distantly related plants.

Our results imply that the benefits of phylogenetic isolation for a host tree due to reduced enemy pressure (Yguel et al., 2011) are mitigated by enemy release of its insect herbivores. In

particular, highly specialist enemies of plants may be capable of tracking their host plants in any neighborhood (see also Chust et al., 2007) and thereby escape their own enemies affected by phylogenetic isolation of host plants. This may potentially inverse the enemy release for the plant, and hence results in fitness loss of host plants in phylogenetically distant neighborhoods. Such a consequence of leaving of the ancestral niche can reinforce the niche conservatism of host plants, notably for those under strong pressure by specialist insect herbivores. Overall for plants, predicting the evolutionary consequences of phylogenetic isolation should take into account the effect of such phylogenetic isolation across the entire trophic chain.

Our results also imply that the selective pressure of parasitoids on insect herbivores may change with phylogenetic isolation of their host plants. Lower and less specialized enemy pressure on phylogenetically isolated host trees might increase the fitness of insect herbivores. A possible consequence is divergent selection of individuals reaching phylogenetically isolated hosts versus individuals staying on non-phylogenetically isolated hosts. The former might for instance be selected for high host seeking capacities, the latter for efficient enemy defense strategies. Such evolutionary differentiation between insect-herbivore lineages on phylogenetically isolated and non-isolated trees of the same species would be consistent with recent concepts of ecological speciation in insect herbivores following plant evolution (Singer and Stireman, 2005; Nyman, 2010). Phylogenetically isolated hosts could in fact be viewed as an environmental island *sensu* Ackerly (2003) that “influences the functional attributes and environmental tolerance of colonizers and subsequent pressures and opportunities for adaptive evolution”, in our study due to dispersal limitation and reduced parasitism pressure. Further analysis based on genetic and quantitative trait comparisons of the different populations of insect herbivores found on phylogenetically isolated and non-isolated host trees are now required to test these hypotheses on possible evolutionary differentiation of insect herbivores.

References

- Ackerly D.D. (2003). Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *Int. J. Plant Sci.*, 164, Pp S165-S184.
- Agrawal A.A., Lau J.A. & Hamback P.A. (2006). Community heterogeneity and the evolution of interactions between plants and insect herbivores. *Q. Rev. Biol.*, 81, Pp 349-376.
- Angiosperm Phylogeny Group. 2009. "An update of the Angiosperm Phylogeny Group 43 classification for the orders and families of flowering plants: APG III", *Bot. J. Linn. Soc.* **161**: 105–121
- Atsatt P.R. & Odowd D.J. (1976). Plant defense guilds. *Science*, 193, 24-29.
- Barbosa P., Hines J., Kaplan I., Martinson H., Szczepaniec A. & Szendrei Z. (2009). Associational Resistance and Associational Susceptibility: Having Right or Wrong Neighbors. In: *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* Annual Reviews Palo Alto, pp. 1-20.
- Bailey R., Schonrogge K., Cook J.M., Melika G., Csoka G., Thuroczy C. & Stone G.N. (2009). Host Niches and Defensive Extended Phenotypes Structure Parasitoid Wasp Communities. *PLoS. Biol.*, 7, 12.
- Bernstein C., Kacelnik A. & Krebs J.R. (1991). Individual decisions and the distribution of predators in a patchy environment. 2. The influence of travel costs and structure of the environment. *J. Anim. Ecol.*, 60, 205-225.
- Bertheau C., Bockerhoff E.G., Roux-Morabito G., Lieutier F. & Jactel H. (2010). Novel insect-tree associations resulting from accidental and intentional biological 'invasions': a meta-analysis of effects on insect fitness. *Ecol. Lett.*, 13, 506-515.
- Borghetti, M. & Giannini, R. (2001). Natural regeneration in woodland management. In: Encyclopedia of Life Support Systems. Eolss Publishers, Oxford, UK.
- Bruckmann S.V., Krauss J., van Achterberg C. & Steffan-Dewenter I. (2011). The impact of habitat fragmentation on trophic interactions of the monophagous butterfly *Polyommatus coridon*. *J. Insect Conserv.*, 15, 707-714.
- Castagneyrol, B., Jactel, H. (2012) Unravelling plant-animal diversity relationships: a meta-regression analysis. *Ecology. In press*.

Chust G., Garbin L. & Pujade-Villar J. (2007). Gall wasps and their parasitoids in cork oak fragmented forests. *Ecol. Entomol.*, 32, 82-91.

Dicke M. and Van Loon J. J. A. (2000). Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomol. exp. appl.* 97. Pp 237-249.

Du Merle. P. (1988). Phenological resistance of oaks to the green oak leafroller, *Tortrix viridana* (Lepidoptera: Tortricidae). In Mechanism of woody plant defenses against insects. Mattson W. J., Levieux J., and Bernard-Dagan C. 1988. Springer. 416 pp.

Futuyma D.J. & Agrawal A.A. (2009). Macroevolution and the biological diversity of plants and herbivores. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106, 18054-18061.

Ghazoul J. (2005). Pollen and seed dispersal among dispersed plants. *Biol. Rev.*, 80, 413-443.

Gossner, M.M., Chao, A., Bailey, R.I. & Prinzing, A. (2009). Native fauna on exotic trees: phylogenetic conservatism and geographic contingency in two lineages of phytophages on two lineages of trees. *Am. Nat.*, 173, Pp 599–614.

Holt R.D., Lawton J.H., Polis G.A. & Martinez N.D. (1999). Trophic rank and the species-area relationship. *Ecology*, 80, Pp 1495-1504.

Jactel H., Birgersson G., Andersson S. & Schlyter F. (2011). Non-host volatiles mediate associational resistance to the pine processionary moth. *Oecologia*, 166, 703-711.

Kaartinen R. & Roslin T. (2011). Shrinking by numbers: landscape context affects the species composition but not the quantitative structure of local food webs. *J. Anim. Ecol.*, 80, 622-631.

Kay M.K. (2008) Are island forest vulnerable to invasive defoliators, chap 1. In: Invasive forest insects, Introduced forest trees, and altered ecosystems. Ecological pest management in global forests of a changing world. (Ed Paine T. D.). Springer. 189 p.

Komonen A., Penttilä R., Lindgren M. & Hanski I. (2000). Forest fragmentation truncates a food chain based on an old-growth forest bracket fungus. *Oikos*, 90, 119-126.

Kondoh M. (2003). Habitat fragmentation resulting in overgrazing by herbivores. *J. Theor. Biol.*, 225, 453-460.

Koricheva J., Vehviläinen H., Riihimäki J., Ruohomäki K., Kaitaniemi P. & Ranta H. (2006). Diversification of tree stands as a means to manage pests and diseases in boreal forests: myth or reality? *Can. J. For. Res.-Rev. Can. Rech. For.*, 36, 324-336.

Kruess A. & Tscharntke T. (1994). Habitat fragmentation, species loss, and biological-control. *Science*, 264, Pp 1581-1584.

Le Corff J., Marquis R.J. & Whitfield J.B. 2000. Temporal and spatial variation in a parasitoid community associated with the herbivores that feed on Missouri Quercus. *Environ. Entomol.*, 29, Pp 181-194.

Legendre, P., Dale, M.R.T., Fortin, M.J., Casgrain, P. & Gurevitch, J. 2004. Effects of spatial structures on the results of field experiments. *Ecology*, 85, Pp 3202–3214.

Letourneau D.K. (1987). The enemies hypothesis- Tritrophic interactions and vegetational diversity in tropical agroecosystems. *Ecology*, 68, 1616-1622.

Mäntylä E., Alessio G.A., Blande J.D., Heijari J., Holopainen J.K., Laaksonen T., Piirtola P. & Klemola T. (2008). From plants to birds: higher avian predation rates in trees responding to insect herbivory. *PLoS One*, 3, 8.

Mills N. J. (1993). Species richness and structure in the parasitoid complexes of tortricoid hosts. *Ecology* 62. 45-58.

Montoya J.M., Rodriguez M.A. & Hawkins B.A. (2003). Food web complexity and higher-level ecosystem services. *Ecol. Lett.*, 6. 587-593.

Nyman T. (2010). To speciate, or not to speciate? Resource heterogeneity, the subjectivity of similarity, and the macroevolutionary consequences of niche-width shifts in plant-feeding insects. *Biol. Rev.*, 85, 393-411.

Ozanne C.M.P., Speight M.R., Hamblen C. & Evans H.F. (2000). Isolated trees and forest patches: Patterns in canopy arthropod abundance and diversity in Pinus sylvestris (Scots Pine). *For. Ecol Manage.*, 137, 53-63.

Petratis P.S., Dunham A.E. & Niewiarowski P.H. (1996). Inferring multiple causality: The limitations of path analysis. *Funct. Ecol.*, 10, 421-431.

Price, P. W. 1984. Insect ecology. Second edition. Wiley Interscience, New York, New York, USA.

Rinker and Lowman, 2004, Insect Herbivory in Tropical Forests Chap 18, pp359- 386 In Lowman, M.D., and H.B. Rinker (editors). 2004. *Forest Canopies* (Second edition). Academic Press.

Rosenzweig M. L. (1995) Species diversity in space and time. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Rott A. S., Häckermann J., Brand N., Vallat A. and Dorn S. 2005. Parasitoid exploitation of the seasonal variation in host plant volatile emission for herbivore location. *Entomol. exp. appl.* 115, Pp 199-205.

Santos A.M.C., Fontaine C., Quicke D.L.J., Borges P.A.V. & Hortal J. (2011) Are island and mainland biotas different? Richness and level of generalism in parasitoids of a microLepidopteran in Macaronesia. *Oikos*, 120, 1256-1262.

Singer M.S. & Stireman J.O. (2005). The tri-trophic niche concept and adaptive radiation of phytophagous insects. *Ecol. Lett.*, 8, 1247-1255.

Southwood, T.R.E., Wint, G.R.W., Kennedy, C.E.J. & Greenwood, S.R. 2004. Seasonality, density, species richness and specificity of the phytophagous guild of insects on oak (*Quercus*) canopies. *Eur. J. Entomol.*, 101, Pp 43–50.

Stireman J.O. & Singer M.S. (2003). Determinants of parasitoid-host associations: Insights from a natural tachinid-Lepidopteran community. *Ecology*, 84, Pp 296-310.

Thaler J.S. (1999). Jasmonate-inducible plant defences cause increased parasitism of herbivores. *Nature*, 399, 686-688.

Tremblay I., Thomas D., Blondel J., Perret P. & Lambrechts M.M. (2005). The effect of habitat quality on foraging patterns, provisioning rate and nestling growth in Corsican Blue Tits *Parus caeruleus*. *Ibis*, 147, 17-24.

Tscharntke T. & Brandl R. (2004). Plant-insect interactions in fragmented landscapes. *Annu. Rev. Entomol.*, 49, 405-430.

Vialatte A., Bailey R.I., Vasseur C., Matocq A., Gossner M.M., Everhart D., Vitrac X., Belhadj A., Ernoult A. & Prinzing A. (2010). Phylogenetic isolation of host trees affects assembly of local Heteroptera communities. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.*, 277, 2227-2236.

Wesolowski, T. & Rowinski, P. (2008). Late leaf development in pedunculate oak (*Quercus robur*): an antiherbivore defence? *Scand. J. Forest Res.*, 23, 386–394.

Wiens J.J. (2004). Speciation and ecology revisited: Phylogenetic niche conservatism and the origin of species. *Evolution*, 58, 193-197.

Williams I.H., Frearson D.J.T., Barari H. & McCartney A. (2007). First field evidence that parasitoids use upwind anemotaxis for host-habitat location. *Entomol. Exp. Appl.*, Pp 123, 299-307.

Wootton J.T. (1994). Predicting direct and indirect effects – an integrated approach using experiments and path analysis. *Ecology*, 75, 151-165.

Yguel B., Bailey R., Tosh N.D., Vialatte A., Vasseur C., Vitrac X., Jean F. & Prinzing A. (2011). Phytophagy on phylogenetically isolated trees: why hosts should escape their relatives. *Ecol. Lett.*, 14, 1117-1124.

TABLES AND FIGURES

Table 1. Variables affecting parasitism rate in 2010. (a) Simple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation, insect-herbivore density, insect herbivory and phenology (b) Multiple regression analysis testing the effect of phylogenetic isolation. Standardized regression coefficients were used as path coefficients in fig. 2. Tolerance indicates the proportion of the variance of a given independent variable not explained by the other independent variables in a multiple regression model. Note that in simple linear regression standardized regression coefficients are not indicated as they were not used in the path analysis. Tolerances of a given variable are one minus the coefficient de correlation of the relationship between the given independent variable with all other independent variables.

Model	Variable	Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
(a)						
$r^2=0.39$	Phylogenetic isolation	19	-3.48	$2*10^{-3}$		
$r^2=0.62$	Ectophagous Lepidoptera density	19	5.62	$2*10^{-5}$		
$r^2=0.14$	Insect herbivory	19	1.79	0.08		
$r^2=0.36$	Budburst phenology	19	-3.32	$3*10^{-3}$		
(b)						
$p=1*10^{-3}$	Phylogenetic isolation	16	-0.46	0.64	-0.11	0.36
	Ectophagous Lepidoptera density	16	2.44	0.02	0.75	0.22
	Insect herbivory	16	-0.95	0.35	-0.19	0.51
	Budburst phenology	16	-0.54	0.59	-0.11	0.51

Table 2. Variables affecting parasitism rate in 2011. (a) Simple regression analyses testing the effects of phylogenetic isolation, insect-herbivore density, insect herbivory and phenology (b) Multiple regression analysis testing the effects of phylogenetic isolation. Standardized regression coefficients were used as path coefficients in fig. 2. Tolerance indicates the proportion of the variance of a given independent variable not explained by the other independent variables in a multiple regression model. Note that in simple linear regression standardized regression coefficients are not indicated as

they were not used in the path analysis. Tolerances of a given variable are one minus the coefficient de correlation of the relationship between the given independent variable with all other independent variables.

Model	Variable	Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
(a)						
$r^2=0.22$	Phylogenetic isolation	20	-2.38	0.02		
$r^2=0.17$	Ectophagous Lepidoptera density	20	2.08	0.05		
$r^2=0.10$	Insect herbivory	20	1.52	0.14		
$r^2=0.16$	Budburst phenology	20	-1.96	0.06		
(b)						
	Phylogenetic isolation	17	-0.59	0.55	-0.17	0.47
$p=0.15$	Ectophagous Lepidoptera density	17	0.99	0.33	0.24	0.67
$r^2=0.31$	Insect herbivory	17	0.59	0.56	0.14	0.70
	Budburst phenology	17	-0.86	0.39	-0.20	0.76

Table 3. Simple linear regression analyses testing the effects of phylogenetic isolation, insect-herbivore density, insect herbivory and phenology on bird predation of ectophagous Lepidoptera in 2011.

Variable	Df	T	P	R ²
Phylogenetic isolation of host plant	18	-0.20	-0.83	$2 \cdot 10^{-3}$
Ectophagous Lepidoptera density	18	0.82	0.41	0.03
Insect herbivory	18	-0.11	0.91	0.02
Budburst phenology	18	-1.02	0.31	0.05

Figure 1. Relationships between phylogenetic isolation of focal oak trees from neighboring trees and parasitism rate of ectophagous Lepidoptera in (a) 2010 and (b) 2011, and (c) bird predation on ectophagous Lepidoptera in 2011. The statistics for these relationships are respectively: (a) d.f. = 19, $r^2 = 0.39$, $t = -3.48$, $P = 2 * 10^{-3}$; (b) d.f. = 20, $r^2 = 0.22$, $t = -2.38$, $P = 0.02$ and (c) d.f. = 18, $r^2 = 2*10^{-3}$, $t = 0.20$, $P = 0.83$.

Figure 1.a

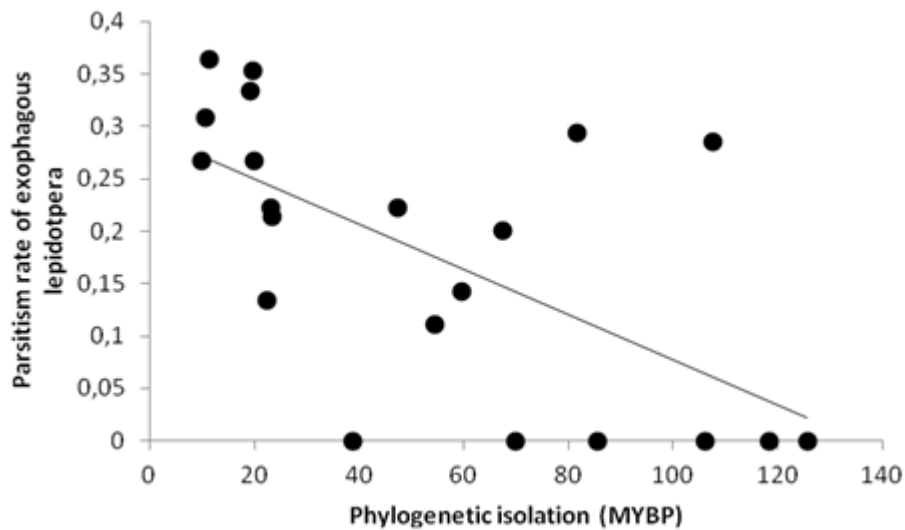


Figure 1.b

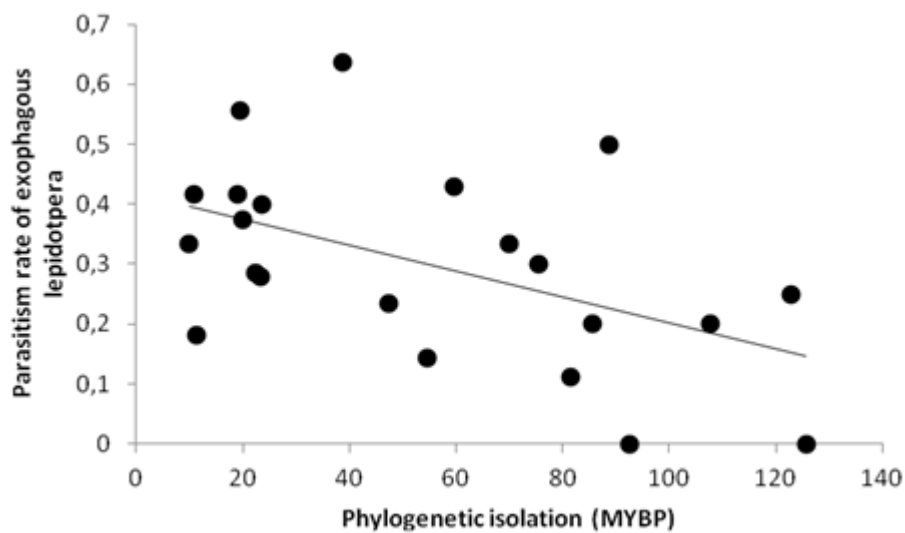


Figure 1.c

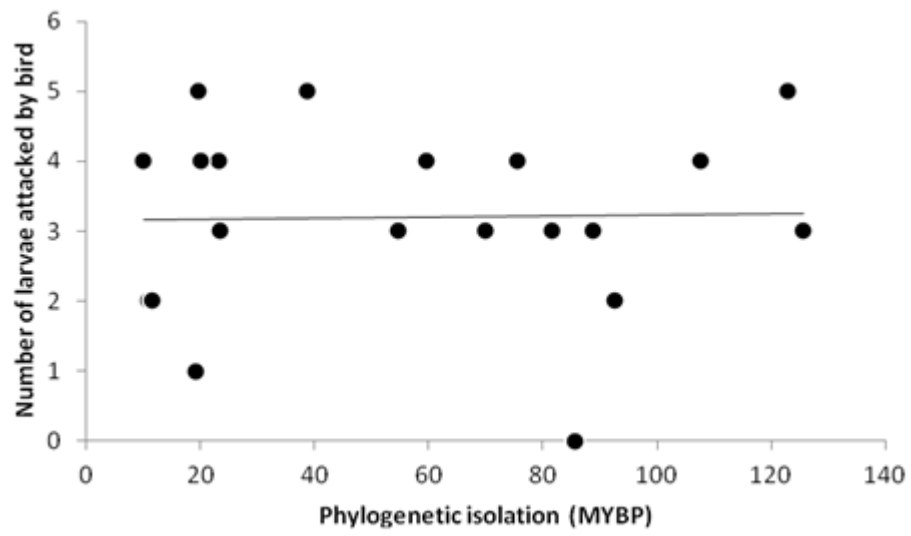
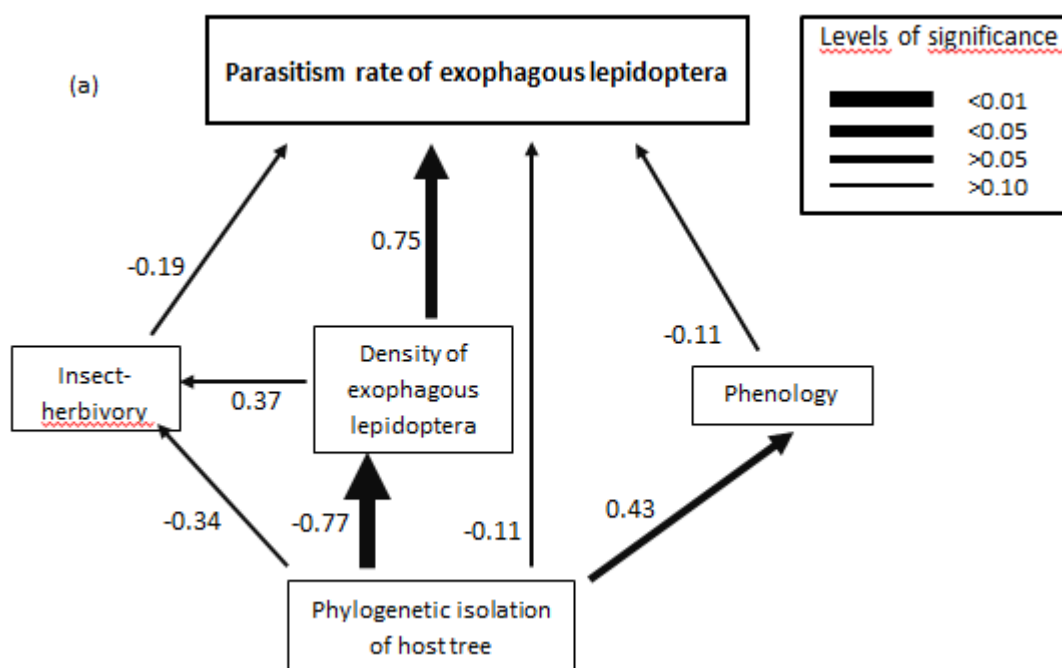
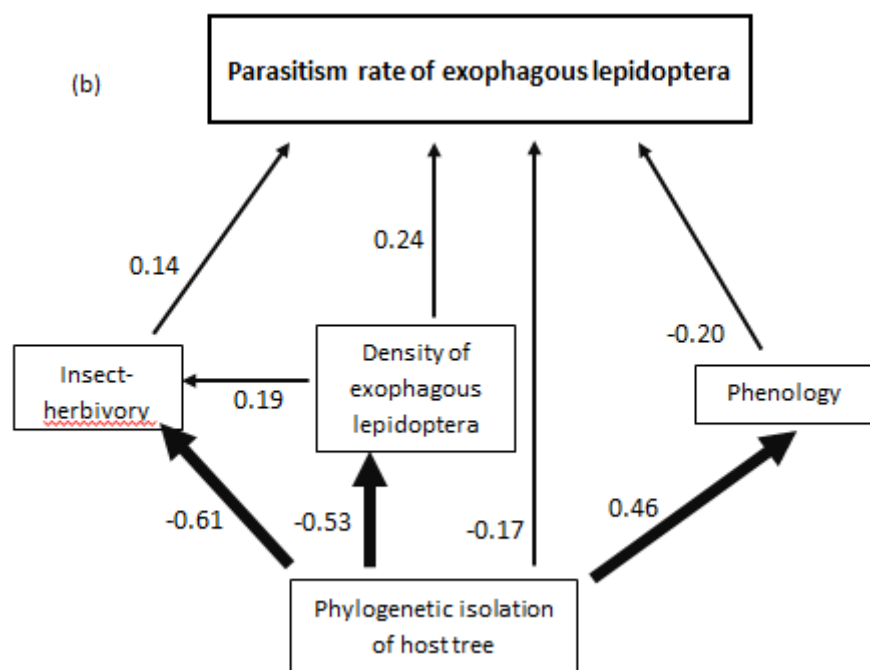


Figure 2. Path diagrams representing the variables that explain enemy pressure (a) due to parasitoids in 2010; (b) due to parasitoids in 2011. Bird predation is not presented as it was not significantly related to any of the independent variables in simple or in multiple regression analysis. Variables are insect herbivory, ectophagous Lepidoptera density, tree phenology and phylogenetic isolation. Direct effects are calculated on simple regression analyses or on multiple regression analyses. Path coefficient (standardized regression coefficient) are indicated. Levels of significance of each relationship are indicated by the size of each arrow. The (direct) relationships depicted in these graphics were used to calculate indirect relationship as compound paths as explained in the Methods.





SUPPORTING INFORMATION OF CHAPTER III

Appendix S1. Further information on the Rennes Forest and on the species composition of the trees surrounding the focal oaks studied.

Appendix S2. Effect of tree pair and tree species on parasitism rate of ectophagous Lepidoptera, on gall parasitism rate and on bird predation of ectophagous Lepidoptera.

Appendix S3. Definition of phylogenetic isolation and table of phylogenetic distances.

Appendix S4. Effect of the surrounding canopy characteristics on enemy pressure.

Appendix S5. Effect of further environmental parameters on enemy pressure.

Appendix S6. Species composition of ectophagous Lepidoptera parasitoids in 2010 and 2011.

Appendix S7. Variables correlated to species richness of ectophagous Lepidoptera parasitoids in 2010 and 2011.

Appendix S8. Effect of phylogenetic isolation on insect herbivory, ectophagous Lepidoptera density and budburst phenology.

Appendix 9 Results of multiple regression analyses on enemy pressure on ectophagous Lepidoptera (parasitism rate in 2010 and 2011, and bird predation in 2011).

Appendix S10. Effect of phylogenetic isolation of host trees on density of galls and their parasitoids.

Appendix S1. Details of the Rennes Forest and the species composition of the trees surrounding the focal oaks studied.

The Forest of Rennes dates back to at least the 12th century. As with all forests in Western and Central Europe, this forest is under the influence of human activities, such as wood management and the effects of surrounding agricultural land use. The Forest of Rennes is split into parcels, mostly managed following the shelterwood cutting system (Borghetti & Giannini 2001). Each parcel is planted typically either with oak (*Quercus petraea* or *Q. robur*) or pine (*Pinus sylvestris*). As in numerous European temperate forests, the other main tree species in these parcels are *Abies alba*, *Alnus glutinosa*, *Betula pendula*, *Carpinus betulus*, *Castanea sativa*, *Corylus avellana*, *Fagus sylvatica*, *Ilex aquifolium*, *Malus sylvestris*, *Sorbus torminalis*, *Populus tremula*, *Prunus avium*, *Pyrus pyraeaster*, *Rhamnus frangula*, *Salix caprea*, *Tilia cordata* and *Ulmus minor*. All these species are native to Europe and were in contact with the focal oaks.

Appendix S2. Effect of tree pair and tree species on parasitism rate of ectophagous Lepidoptera, on gall parasitism rate and on bird predation of ectophagous Lepidoptera.

We found that tree “pair” did not significantly affect parasitism rate of ectophagous Lepidoptera in 2010 and 2011 (ANOVA, d.f. =11, $F = 1.22$, $P = 0.37$ in 2010 and ANOVA, d.f. =11, $F = 0.46$, $P = 0.88$ in 2011) or bird predation on brown sentinel larvae (ANOVA, d.f. =9, $F = 1.39$, $P = 0.31$). Thus we pooled tree pair with the error term. As expected given the sampling design, we also found that *Q. petraea* vs. *Q. robur* had no significant impact on parasitism rate in 2010 and 2011 (ANOVA, d.f. =20 , $F < 0.01$, $P = 0.94$ in 2010 and ANOVA, d.f. =20 , $F = 0.31$, $P = 0.58$ in 2011) or on bird predation on sentinel larvae in 2011 (ANOVA, d.f. =18, $F = 0.43$, $P = 0.51$) nor bird predation on brown sentinel larvae (ANOVA, d.f. =18, $F = 1.90$, $P = 0.18$).

Appendix S3. Definition of phylogenetic isolation and table of phylogenetic distance

Phylogenetic distance is the estimated time (in MYBP) since the evolutionary establishment of the clades of a given neighboring tree species and of oaks. These phylogenetic distances were taken from Vialatte et al. 2010 and Yguel et al. 2011. Note that this is not the most recent common ancestor, as this would give pines an extreme weight, given the extreme age of Gymnosperms (probably more than 160 million years older than Angiosperms as we know them today, Savard et al., 1994), and would essentially render our parameter a simple percentage of pines in the surroundings of the oaks. Rather, this is the age when both sister clades had established their particular characteristics as hosts for insects (i.e. phylogenetic tree crown age and not stem age). See Methods for further explanations.

The table below gives phylogenetic distances in millions of years before present between oak and the other tree species in the communities. Distance corresponds to the smaller of the two phylogenetic tree crown ages of the two lineages involved (i.e. of oak and of the other tree species) at the corresponding phylogenetic rank (inferred from Magallon et al., 1999, Manos et al., 1999, Wikström et al., 2001, APG 2003, and 2009, Poinar et al., 2007). This table is extracted from Vialatte et al. 2010 and Yguel et al. 2011. See Methods for further explanations.

Species	Phylogenetic rank of separation with oak						distance
<i>Chamaecyparis</i> sp.	Spermatophytes	-	-	-	-	-	140
<i>Pinus sylvestris</i>	Spermatophytes	-	-	-	-	-	140
<i>Abies</i> sp.	Spermatophytes	-	-	-	-	-	140
<i>Ilex</i> sp.	Angiosperms	Asterids	-	-	-	-	128
<i>Tilia</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Malvids	-	-	-	89.5
<i>Salix caprea</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Malpighiales	-	-	68
<i>Populus tremula</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Malpighiales	-	-	68
<i>Rhamnus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Prunus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Sorbus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Pyrus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Malus</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Ulmus minor</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Alnus glutinosa</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54

<i>Corylus avellana</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Betula</i> sp.	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Carpinus betulus</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Fagus sylvatica</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Fagaceae	Fagus	40
<i>Castanea sativa</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Fagaceae	Castanea	40

References:

Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Bot. J. Linn. Soc. 141, 399–436.

Angiosperm Phylogeny Group. 2009. "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III", Bot. J. Linn. Soc. **161**: 105–121

Magallon, S., Crabe, P. R. & Herendeen, P. S. 1999. Phylogenetic pattern, diversity, and diversification of eudicots. Ann. Missouri Bot. Garden 86, 1407–1419.

Manos, P. S., Doyle, J. J. & Nixon, K. C. 1999 Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). Mol. Phyl. Evol. 12, 333–349.

Poinar, G., Chambers, K. L. & Buckley, R. 2007 *Eoepigynia burmensis* Gen. and sp. nov., an early Cretaceous Eudicot flower (Angiospermae) in Burmese Amber. J. Bot. Res. Inst. Texas 1, 91–96.

Savard L., Li P., Strauss S.H., Chase M.W., Michaud M. & Bousquet J. (1994). Chloroplast and nuclear genes-sequences indicate late Pennsylvanian time for the last common ancestor of extant seed plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 91, 5163-5167.

Vialatte A., Bailey R.I., Vasseur C., Matocq A., Gossner M.M., Everhart D., Vitrac X., Belhadj A., Ernoult A. & Prinzing A. (2010). Phylogenetic isolation of host trees affects assembly of local Heteroptera communities. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.*, 277, 2227-2236.

Wikström, N., Savolainen, V. & Chase, M. W. 2001 Evolution of the angiosperms: calibrating the family tree. *Proc. R. Soc. Lond. B* 268, 2211–2220.

Appendix S4. Effect of the surrounding canopy characteristics on enemy pressure

Diversity of the surrounding canopy had no significant effect on parasitism rate in 2010 (d.f.=19; $t=-0.32$; $P=0.75$) or 2011 (d.f.=20; $t=1.02$; $P=0.31$). Also, bird predation on brown sentinel larvae was not affected by diversity of the surrounding canopy in 2011 (d.f.=18; $t=-0.30$; $P=0.76$). In 2010, bird predation was not measured.

Distance to the closest conspecific host tree also had no significant effect on parasitism rate in 2010 (d.f.=19; $t=-0.91$; $P=0.37$) or 2011 (d.f.=20; $t=-1.28$; $P=0.31$). Also bird predation on brown sentinel larvae was not affected by distance to closest conspecific in 2011 (d.f.=18; $t=0.24$; $P=0.81$).

Appendix S5. Effect of further environmental parameters on enemy pressure

Table S5.a Effect of environmental parameters on the parasitism rate of ectophagous Lepidoptera in 2010 in simple regression analysis.

Variable	Df	T	p	R ²
crown size	19	-0,39	0,69	8*10 ⁻³
crown volume	19	-0.47	0.64	0.01
Temperature march	18	0.75	0.46	0.03
Humidity march	18	-1.01	0.32	0.05
Temperature april	18	0.71	0.48	0.02
Humidity april	18	-0.56	0.58	0.01
Temperature may	18	-0.17	0.85	1*10 ⁻³
Humidity may	18	1.41	0.17	0.09
leaf C/N ratios	19	0.75	0.46	0.02
dry weight	19	1.04	0.31	0.05

Table S5.b Effect of environmental parameters on the parasitism rate of ectophagous Lepidoptera in 2011 in simple regression analysis.

Variable	Df	T	p	R ²
Crown size	20	-0.49	0.62	0.01
Crown volume	20	-0.81	0.42	0.03
Temperature march	13	0.95	0.35	0.06
Humidity march	13	0.50	0.62	0.01
Temperature april	13	1.56	0.14	0.15
Humidity april	13	0.25	0.80	5*10 ⁻³
Temperature may	13	0.26	0.79	5*10 ⁻³
Humidity may	13	0.48	0.63	0.01
Leaf C/N ratios	NA	NA	NA	NA
Dry weight	NA	NA	NA	NA

Table S5.c Effect of environmental parameters on bird predation on brown sentinel larvae in 2011 in simple regression analysis.

Variable	Df	T	p	R ²
Crown size	18	0.84	0.40	0.03
Crown volume	18	0.46	0.64	0.01
Temperature march	11	0.76	0.46	0.04
Humidity march	11	1,10	0,29	0.10
Temperature april	11	0.69	0.50	0.04
Humidity april	11	0,96	0.35	0.07
Temperature may	11	0.53	0.60	0.02
Humidity may	11	1.08	0.30	0.09
Leaf C/N ratios	NA	NA	NA	NA
Dry weight	NA	NA	NA	NA

Table S5.d Effect of environmental parameters on the density of gall parasitoids in simple regression analysis.

Variable	Df	T	p	R ²
Crown size	15	-0.39	0.70	0.01
Surrounding canopy density	15	-1.94	0.07	0.20
Temperature march	15	-0.32	0.74	$8 \cdot 10^{-3}$
Humidity march	15	-1.93	0.07	0.22
Temperature april	15	-0.30	0.76	$6 \cdot 10^{-3}$
Humidity april	15	-0.21	0.21	0.09
Temperature may	15	0.06	0.94	$3 \cdot 10^{-4}$
Humidity may	15	-1.47	0.16	0.12
Leaf C/N ratios	15	0.76	0.45	0.03
Dry weight	15	-0.08	0.93	$5 \cdot 10^{-4}$

Appendix S6. Species composition of ectophagous Lepidoptera parasitoids in 2010 and 2011.

Table S6. The identification numbers from 1 to 250 correspond to the parasitoids of ectophagous Lepidoptera in 2010 and the identification numbers from 300 to 540 correspond to the parasitoids of ectophagous Lepidoptera in 2011. In the table Brac.: Braconidae; Ichn.: Ichneumonidae; Eul.: Eulophidae; Geo.: Geometridae; Las. : Lasiocampidae; Oec.: Oecophoridae; Pyr.: Pyralidae; Tor.: Tortricidae; Yps.: Ypsolophidae)

Parasitoid species	Family, Sub-family	N individuals	Year of collection	Identified lepidopteran hosts
<i>Aleiodes circumscriptus</i>	Brac., Rogadinae	3	2010	<i>Conistra erythrocephala</i> or <i>Eupsilia</i> sp. (Noc.)
<i>Aleiodes</i> sp. 1	Brac. Rogadinae	4	2011	<i>Orthosia cerasi</i> (Noc.)
<i>Apanteles lineipes</i>	Brac., Microgastrinae	1	2011	<i>Zeiraphera isertana</i> (Tor.)
<i>Apanteles</i> sp. 1	Brac., Microgastrinae	3	2010 (1), 2011 (2)	Tortricidae spp.
<i>Apanteles</i> sp. 2	Brac., Microgastrinae	2	2010	<i>Conistra erythrocephala</i> or <i>Eupsilia</i> sp. (Noc.), <i>Acrobasis repandana</i> (Pyr.)
<i>Apanteles</i> sp. 3	Brac., Microgastrinae	1	2010	<i>Ypsolopha parenthesella</i> (Yps.)
<i>Apanteles</i> sp. 4	Brac., Microgastrinae	1	2010	<i>Tortrix viridana</i> (Tor.)
<i>Apechthis quadridentata</i>	Ichn., Pimplinae	1	2010	<i>Orthosia cerasi</i> (Noc.)
<i>Apophua bipunctoria</i>	Ichn., Banchinae	2	2010, 2011	Tortricidae spp.
<i>Bassus rufipes</i>	Brac., Agathidinae	2	2010, 2011	<i>Hedya nubiferana</i> (Tor.), Tortricidae sp.
<i>Bassus dimidiator</i>	Brac., Agathidinae	1	2011	<i>Hedya nubiferana</i> (Tor.)
<i>Campoplex</i> sp.1	Ichn., Campopleginae	1	2010	<i>Ypsolopha parenthesella</i> (Yps.)

<i>Charmon cruentatus</i>	Brac., Charmontinae	1	2011	<i>Tortrix viridana</i> (Tor.)
<i>Cotesia spuria</i>	Brac., Microgastrinae	1	2011	<i>Poecilocampa populi</i> (Las.)
<i>Diadegma</i> sp	Ichn., Campopleginae	8	2010 (6), 2011 (2)	<i>Agriopsis aurantaria</i> (Geo.), <i>Archips</i> spp. (Tor.), Tortricidae spp.
<i>Exochus citripes</i>	Ichn., Metopiinae	3	2010	<i>Archips</i> spp. (Tor.)
<i>Exochus semilividus</i>	Ichn., Metopiinae	1	2010	<i>Archips</i> sp. (Tor.)
<i>Hyposoter</i> sp	Ichn., Campopleginae	1	2011	<i>Carcina quercana</i> (Oec.)
<i>Itoplectis alternans</i>	Ichn., Pimplinae	1	2011	?
<i>Lissonota</i> sp.1	Ichn., Banchinae	1	2010	?
<i>Macrocentrus bicolor</i>	Brac., Macrocentrinae	20	2010 (9), 2011 (11)	<i>Archips</i> spp. (Tor.), <i>Carcina quercana</i> (Oec.), <i>Hedya nubiferana</i> (Tor.), <i>Tortrix viridana</i> (Tor.)
<i>Macrocentrus thoracicus</i>	Brac., Macrocentrinae	1	2011	<i>Hedya nubiferana</i> (Tor.)
<i>Mesochorus</i> sp.	Ichn., Mesochorinae	2	2010	<i>Archips</i> sp. (Tor.), Tortricidae sp.
<i>Meteorus</i> sp.	Brac., Euphorinae	2	2010, 2011	hyperparasitoid of <i>Hedya nubiferana</i> (Tor.) and <i>Acrobasis consociella</i> (Pyr.)
<i>Phytodietus polyzonias</i>	Ichn., Tryphoninae	3	2010	<i>Tortrix viridana</i> (Tor.)
<i>Scambus</i> sp. 1	Ichn., Pimplinae	1	2011	?
<i>Scambus</i> sp. 2	Ichn., Pimplinae	1	2010	Geometridae sp.
<i>Sinophorus</i> sp.1	Ichn., Campopleginae	1	2010	<i>Conistra erythrocephala</i> (Noc.),
<i>Sinophorus</i> sp. 2	Ichn., Campopleginae	2	2011	<i>Archips</i> sp. (Tor.), <i>Tortrix viridana</i> (Tor.)

<i>Sympiesis sericeicornis</i>	Eul., Eulophinae	2	2011	<i>Tortrix viridana</i> (Tor.)
<i>Sympiesis</i> sp1	Eul., Eulophinae	2	2010, 2011	<i>Tortrix viridana</i> (Tor.)
<i>Sympiesis</i> sp2	Eul., Eulophinae	1	2011	<i>Tortrix viridana</i> (Tor.)
<i>Sympiesis</i> sp3	Eul., Eulophinae	5	2010 (1), 2011 (4)	<i>Tortrix viridana</i> (Tor.), Tortricidae spp.
<i>Tetrastichus</i> sp	Eul., Tetrastichinae	1	2011	<i>Carcina quercana</i> (Oec.)
<i>Tranosema</i> sp.1	Ichn., Campopleginae	2	2010, 2011	<i>Agriopis aurantaria</i> (Geo.), <i>Tortrix viridana</i> (Tor.)
Larvae spp.	Ichneumonidae?	3	2011	<i>Archips</i> spp. (Tor.), <i>Carcina quercana</i> (Oec.), <i>Conistra</i> sp. (Noc.)
Larvae spp.	Ichneumonidae or Braconidae	9	2010 (1), 2011 (8)	<i>Archips</i> spp. (Tor.), <i>Pammene argyrana</i> (Tor.), <i>Tortrix viridana</i> (Tor.)

Appendix S.7 Variables correlated to species richness of ectophagous Lepidoptera parasitoids in 2010 and 2011

Table S7 a. Results of simple and multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation, insect-herbivore density and insect herbivory on species richness of ectophagous Lepidoptera parasitoids in 2010.

Model	Variable	Df	T	p
R ² =0.25	Phylogenetic isolation	14	-2.21	0.04
R ² =0.45	Ectophagous Lepidoptera density	14	3.43	4*10 ⁻³
R ² =0.09	Insect herbivory	14	1.22	0.24
R ² =0.08	Budburst phenology	14	-1.12	0.27
Model 1 R ² =0.45 P=0.01	Phylogenetic isolation	13	-0.20	0.83
	Ectophagous Lepidoptera density	13	2.19	0.04
Model 2 R ² =0.13 P=0.13	Phylogenetic isolation	13	-1.74	0.10
	Insect herbivory	13	-0.40	0.68
Model 3 R ² =0.31 P=0.08	Phylogenetic isolation	13	-2.11	0.05
	Phenology	13	-1.06	0.30

Table S7 b. Results of simple and multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation, insect-herbivore density and insect herbivory on species richness of ectophagous Lepidoptera parasitoids in 2011.

Model	Variable	Df	T	p
R ² =0.06	Phylogenetic isolation of host plant	17	-1.06	0.30
R ² =0.57	Ectophagous Lepidoptera density	17	4.84	1*10 ⁻⁴

R ² =0.01	Insect herbivory	17	0.44	0.66
R ² =0.10	Budburst phenology	17	-1.41	0.17
Model 1 R ² =0.58 P=9*10 ⁻⁴	Phylogenetic isolation Ectophagous Lepidoptera density	16 16	0.36 4.46	0.71 0.04
Model 2 R ² =0.06 P=0.59	Phylogenetic isolation Insect herbivory	16 16	-0.93 3*10 ⁻³	0.36 0.99
Model 3 R ² =0.11 P=0.37	Phylogenetic isolation Phenology	16 16	-0.42 -0.97	0.67 0.34

Conclusions for 2010 and 2011:

Phylogenetic isolation decreases significantly species richness of ectophagous-Lepidoptera parasitoids only in 2010 while decreasing ectophagous Lepidoptera density decreases the species richness of ectophagous-Lepidoptera parasitoids in 2010 and 2011. In all multivariate analyses, only ectophagous Lepidoptera density had a significant effect on species richness of ectophagous Lepidoptera parasitoids.

Appendix 8. Effect of phylogenetic isolation on insect herbivory, on ectophagous Lepidoptera density and on budburst phenology

Table S8.1 Results of simple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation on ectophagous Lepidoptera density, insect herbivory and phenology in 2010 and in 2011.

Dependent variable	Df	T	p	R ²	Standardized regression coefficient
Ectophagous Lepidoptera density 2010	19	-5.40	$3 * 10^{-5}$	0.60	-0.77
Ectophagous Lepidoptera density 2011	20	-2.83	0.01	0.28	-0.53
Insect herbivory in 2010	19	-3.49	$2 * 10^{-3}$	0.39	-0.62
Insect herbivory in 2011	20	-2.66	0.01	0.26	-0.51
Budburst phenology in 2010	19	2.06	0.05	0.18	0.43
Budburst phenology in 2011	20	2.34	0.02	0.21	0.46

Table S8.2 (a) Simple linear regression analyses testing the effect of ectophagous Lepidoptera density on insect herbivory in 2010 and in 2011, and (b) multiple regression testing the effect of ectophagous Lepidoptera density and phylogenetic isolation on insect herbivory in 2010.

Model	Variable	Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
(a) $r^2=0.40$	Ectophagous Lepidoptera density 2010	19	-3.57	$2 * 10^{-3}$	0.63	
$r^2=0.01$	Ectophagous Lepidoptera density 2011	20	0.62	0.53	0.13	
(b) $p=4 * 10^{-3}$ $r^2=0.44$	Phylogenetic isolation	18	-1.20	0.24	-0.34	0.39
	Ectophagous Lepidoptera density 2010	18	1.32	0.20	0.37	0.39
P=0.04 $r^2=0.28$	Phylogenetic isolation	19	-2.67	0.01	-0.61	0.71
	Ectophagous Lepidoptera density 2011	19	-0.82	0.41	0.19	0.71

Appendix 9 Results of multiple regression analyses on enemy pressure on ectophagous Lepidoptera (i.e. parasitism rate in 2010 and 2011, and bird predation in 2011).

Table S9.1 Results of multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation, insect-herbivore density, insect herbivory and phenology on parasitism rate of ectophagous Lepidoptera in 2010. All possible models that include phylogenetic isolation were tested. Tolerance indicates the proportion of the variance of a given independent variable not explained by the other independent variables in a multiple regression model. Note that in simple linear regression standardized regression coefficients are not indicated as they were not used in the path analysis. Tolerances of a given variable are one minus the coefficient de correlation of the relationship between the given independent variable with all other independent variables. See table 1 for simple regression analysis. Note that the goal was to identify whether phylogenetic isolation remains significant under different combinations of independent variables. The goal was not to select among these models the most parsimonious one.

Model	Variable	Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
Model 1 $p=1*10^{-3}$ $r^2=0.65$	Phylogenetic isolation	16	-0.46	0.64	-0.11	0.36
	Ectophagous Lepidoptera density	16	2.44	0.02	0.75	0.22
	Insect herbivory	16	-0.95	0.35	-0.19	0.51
	Budburst phenology	16	-0.54	0.59	-0.11	0.51
Model 2 $p=4*10^{-4}$ $r^2=0.63$	Phylogenetic isolation	17	-0.24	0.80	-0.05	0.38
	Ectophagous Lepidoptera density	17	2.25	0.03	0.63	0.26
	Bud burst phenology	17	-0.82	0.41	-0.16	0.55
Model 3 $p=3*10^{-4}$ $r^2=0.65$	Phylogenetic isolation	17	-0.41	0.68	-0.09	0.36
	Ectophagous Lepidoptera density	17	3.58	$2*10^{-3}$	0.85	0.35
	Insect herbivory	17	-1.16	0.26	-0.22	0.55
Model 4 $p=4*10^{-3}$ $r^2=0.53$	Phylogenetic isolation	17	-1.95	0.06	-0.44	0.52
	Insect herbivory	17	$-3*10^{-3}$	0.99	$-7*10^{-4}$	0.60
	Bud burst phenology	17	-2.26	0.03	-0.41	0.81
Model 5 $p=0.01$	Phylogenetic isolation	18	-2.69	0.01	-0.63	0.60
	Insect herbivory	18	-0.07	0.94	-0.01	0.60

$r^2=0.39$						
Model 6 $p=1*10^{-4}$ $r^2=0.62$	Phylogenetic isolation	18	-0.10	0.91	-0.02	0.39
	Ectophagous Lepidoptera density	18	3.35	$3*10^{-3}$	0.77	0.39
Model 7 $p=1*10^{-4}$ $r^2=0.63$	Ectophagous Lepidoptera density	18	3.66	$1*10^{-3}$	0.68	0.56
	Bud burst phenology	18	-0.81	0.42	-0.15	0.56
Model 8 $p=1*10^{-3}$ $r^2=0.53$	Phylogenetic isolation	18	-2.50	0.02	-0.44	0.81
	Bud burst phenology	18	-2.32	0.03	-0.41	0.81
Model 9 $p=8*10^{-5}$ $r^2=0.64$	Insect herbivory	18	-1.11	0.27	-0.20	0.59
	Ectophagous Lepidoptera density	18	5.08	$7*10^{-5}$	0.91	0.59
Model 10 $p=3*10^{-4}$ $r^2=0.65$	Ectophagous Lepidoptera density	18	3.35	$3*10^{-3}$	0.83	0.32
	Insect herbivory	18	-0.89	0.38	-0.17	0.54
	Bud burst phenology	18	-0.51	0.61	-0.10	0.51

Table S9.2 Results of multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation, insect-herbivore density, insect herbivory and phenology on parasitism rate of ectophagous Lepidoptera in 2011. All possible models that include phylogenetic isolation were tested. Tolerance indicates the proportion of the variance of a given independent variable not explained by the other independent variables in a multiple regression model. Note that in simple linear regression standardized regression coefficients are not indicated as they were not used in the path analysis. Tolerances of a given variable are one minus the coefficient de correlation of the relationship between the given independent variable with all other independent variables. See table 2 for simple regression analysis.

Model	Variable	Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
Model 1 $p=0.15$ $r^2=0.31$	Phylogenetic isolation	17	-0.59	0.55	-0.17	0.47
	Ectophagous Lepidoptera density	17	0.99	0.33	0.24	0.67
	Insect herbivory	17	0.59	0.56	0.14	0.70

	Budburst phenology	17	-0.86	0.39	-0.20	0.76
Model 2 p=0.08 r ² =0.29	Phylogenetic isolation	18	-1.02	0.32	-0.25	0.61
	Ectophagous Lepidoptera density	18	0.91	0.37	0.21	0.70
	Bud burst phenology	18	-0.94	0.35	-0.21	0.77
Model 3 p=0.10 r ² =0.28	Phylogenetic isolation	18	-0.87	0.39	-0.24	0.51
	Ectophagous Lepidoptera density	18	1.12	0.27	0.27	0.68
	Insect herbivory	18	0.68	0.50	0.16	0.71
Model 4 p=0.12 r ² =0.27	Phylogenetic isolation	18	-1.24	0.22	-0.31	0.62
	Insect herbivory	18	0.40	0.68	0.09	0.73
	Bud burst phenology	18	-0.99	0.33	-0.22	0.77
Model 5 p=0.08 r ² =0.23	Phylogenetic isolation	19	-1.76	0.09	-0.41	0.73
	Insect herbivory	19	0.47	0.63	0.11	0.73
Model 6 p=0.0557 r ² =0.26	Phylogenetic isolation	19	-1.46	0.15	-0.34	0.71
	Ectophagous Lepidoptera density	19	1.02	0.31	0.23	0.71
Model 7 p=0.06 r ² =0.25	Ectophagous Lepidoptera density	19	1.55	0.13	0.32	0.89
	Bud burst phenology	19	-1.40	0.17	-0.29	0.89
Model 8 p=0.0543 r ² =0.26	Phylogenetic isolation	19	-1.62	0.12	-0.36	0.78
	Bud burst phenology	19	-1.05	0.30	-0.23	0.78
Model 9 p=0.06 r ² =0.25	Insect herbivory	19	1.34	0.19	0.26	0.98
	Ectophagous Lepidoptera density	19	1.92	0.06	0.38	0.98
Model 10 p=0.08 r ² =0.29	Ectophagous Lepidoptera density	18	1.50	0.14	0.31	0.88
	Insect herbivory	18	1.01	0.32	0.21	0.91
	Bud burst phenology	18	-1.08	0.29	-0.23	0.82

Table S9.3 Results of multiple regression analysis testing the effect of phylogenetic isolation, insect-herbivore density, insect herbivory and phenology on bird predation of ectophagous Lepidoptera in 2011. All possible models that include phylogenetic isolation were tested. Tolerance indicates the proportion of the variance of a given independent variable not explained by the other independent

variables in a multiple regression model. Note that in simple linear regression standardized regression coefficients are not indicated as they were not used in the path analysis. Tolerances of a given variable are one minus the coefficient de correlation of the relationship between the given independent variable with all other independent variables. See table 3 for simple regression analysis.

Model	Variable	Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
Model 1 p=0.70 r ² =0.12	Phylogenetic isolation	15	0.59	0.56	0.20	0.49
	Ectophagous Lepidoptera density	15	0.53	0.59	0.16	0.62
	Insect herbivory	15	-0.42	0.67	-0.11	0.74
	Budburst phenology	15	-1.19	0.25	-0.33	0.72
Model 2 p=0.68 r ² =0.08	Phylogenetic isolation	16	0.59	0.55	0.18	0.58
	Ectophagous Lepidoptera density	16	0.65	0.52	0.19	0.62
	Bud burst phenology	16	-0.86	0.39	-0.24	0.72
Model 3 p=0.68 r ² =0.04	Phylogenetic isolation	17	0.33	0.74	0.09	0.65
	Ectophagous Lepidoptera density	17	0.84	0.40	0.24	0.65
Model 4 p=0.56 r ² =0.06	Ectophagous Lepidoptera density	17	0.42	0.67	0.11	0.81
	Bud burst phenology	17	-0.72	0.47	-0.18	0.81
Model 5 p=0.58 r ² =0.06	Phylogenetic isolation	17	0.32	0.74	0.08	0.75
	Bud burst phenology	17	-1.03	0.31	-0.27	0.75

Appendix S10. Effect of phylogenetic isolation of host tree on density of galls and their parasitoids.

We studied parasitoid species of much more specialist insect herbivores, oak galls produced by cynipid wasps (Hymenoptera: Cynipidae). We focused particularly on chalcidoid parasitoids which are known to be the primary cause of parasitoid-induced mortality on oak gall-insects (Hayward and Stone, 2005).

Informations about the focal trees, phylogenetic isolation, insect herbivory, and phenology in 2006.

The forest of the 2006 study was the same as in 2010 and 2011. Eighteen c. 80-year-old focal trees (in 2006) with mean circumference \pm SD at breast height = 62.1 ± 16.7 cm in 2010 and 2011, and 93.2 ± 22.4 cm were used in 2006. As in 2010 and 2011, the trees were sampled in pairs (See Methods for details). We found that tree “pair” did not significantly affect gall parasitoid density in 2006 (ANOVA, d.f. =8, $F = 0.34$, $P = 0.92$), or gall density (d.f. =15, $F = 0.67$, $P = 0.70$). Thus we pooled tree pair with the error term. We also found that *Q. petraea* vs. *Q. robur* had no significant impact on gall parasitoid density in 2006 (ANOVA, d.f. =15, $F = 0.12$, $P = 0.72$) or on gall density (d.f. =15, $F = 1.32$, $P = 0.26$).

Phylogenetic isolation was calculated as in 2010 and 2011. Overall, mean phylogenetic isolation ranged from 5.71 to 106.67 million years in 2006. As in 2010 and 2011, diversity of the surrounding canopy, distance to the closest conspecific oak and percentage of neighboring oaks were calculated (See methods for details). Diversity of the surrounding canopy had no significant effect on gall parasitoid density in 2006 (d.f.=15; $t=0.15$; $P= 0.87$) or gall density (d.f.=15; $t=0.51$; $P= 0.61$). Distance to the closest conspecific had a marginally significant negative effect on gall parasitoid density in 2006 (d.f.=15; $t=-1.88$; $P= 0.07$) but not on gall density (d.f.=15; $t=1.68$; $P=0.11$).

Insect herbivory was measured like in 2010 and 2011. The mean percentages of leaf damage per tree ranged from 3 to 34% in 2006. Phylogenetic isolation was negatively correlated to insect herbivory in 2006 (d.f.=16; $t=-3.62$; $p=2*10^{-3}$; $r^2=0.45$; standardized regression coefficient or $b^* = -0.65$).

Phenology was not measured in 2006.

Sampling design of parasitoids and their host galls.

Chalcidoids were sampled monthly from late May to mid-November 2006, with flight interception traps (one per tree) placed in crowns at a mean height of 13 m above the ground (s.d. = 4.1 m). These traps are well established as a means of studying faunal composition of actively or passively flying insects in tree crowns (e.g. Goßner et al. 2009, Vialatte et al. 2010). We opted for flight interception traps because they permit an overview of the relatively long period of gall establishment and hence exposure to parasitoids. Chalcidoids were determined by Jean-Luc Vago in

2006. In total, 89 female (F) and 80 male (M) parasitoids of species that are known to be specialists of oak-galls were sampled, belonging to only 5 species: *Mesopolobus dubius* 87% of all F, 88% of all M, *Mesopolobus fuscipes*, 7% of all F, 11% of all M, *Mesopolobus tibialis*, 1% of all F, 0% of all M, *Arthrolytus occelus*, 1% of all F, 0% of all M, and *Sycophila variegata*, 1% of all F, 0% of all M. We only analyzed *Mesopolobus dubius* considering the very low abundance of the other species. In total, 78 females and 69 males of *Mesopolobus dubius* were sampled. In order to obtain the more accurate proxy of the density of truly active parasitoids, we only considered the female parasitoids of this species. However, pooling both males and females did not change the conclusions of the analyses on phylogenetic isolation (See table S10.1 and S10.2).

Galls were sampled in 2006 during the same period as for the parasitoids. Branches were sampled from each of the crowns, from the top stratum (the highest quarter of the tree, in proximity to the trunk), the lower but exposed stratum (in the outer canopy, with no branches above preventing sun exposure) and from a sheltered stratum (typically lower in the canopy, always with branches above reducing sun exposure). Galls were sampled directly from the leaves or buds by cutting between 1.5 and 2 m of branch. Overall, 269 insect galls were sampled on 23196 leaves. For all analyses, we pooled the samples from a given tree to calculate total gall density. The density of galls corresponded to the number of galls found on a branch divided by the number of leaves on this branch. To approach a potential parasitism rate, only insect gall species known to be parasitized by *Mesopolobus dubius* and galls specialist of oak were sampled (*Neuroterus quercusbaccarum*, *Neuroterus numismalis*; Cynipini ; see Stone et al. 2002 for their specialization on oak species). We use the information of host range of *Mesopolobus dubius* available on Universal chalcidoidea database (2011). As indicated in the Universal chalcidoidea database, one single record of *Mesopolobus dubius* indicates *Sparganothis pilleriana* (Tortricidae, Lepidoptera) as a host but according to Stone et al. 2002, parasitoids of oak galls should be found only in the cynipid community. We thus considered *Mesopolobus dubius* as a specialist of gall hosts only.

For the parasitoid density, one outlier exceeding all others values by 200 percent was excluded. Excluding this extreme observation did not change the sign of the relationship. Moreover non parametric analysis on the entire dataset led to the same conclusion (see below).

Statistical analysis.

Gall parasitoids and their hosts were analyzed separately. The statistical analysis performed was the same as the statistical analysis performed for enemy pressure of Lepidoptera (See Methods).

Effect of phylogenetic isolation on gall parasitoid density and on gall density.

Female parasitoid density declined significantly with increasing phylogenetic isolation of the host plant and with decreasing insect herbivory (see table S10.1 and figure S10.2), while gall density increased significantly with phylogenetic isolation and decreased significantly with insect herbivory (See table S10.3). In a model including all variables (phylogenetic isolation, gall density and insect herbivory), the direct effect of phylogenetic isolation on female parasitoid density was higher than the direct effect of insect herbivory or gall density (i.e. respectively -0.51, 0.42 and 0.26). This direct effect of phylogenetic isolation on female parasitoids (-0.51) was stronger than the total indirect effect of phylogenetic isolation on female parasitoid density via insect herbivory and via gall density (-0.14). The overall effect of phylogenetic isolation on female parasitoid density was -0.65.

Why phylogenetic isolation of host plants decreases density of gall parasitoids

For gall parasitoids, just as for ectophagous Lepidoptera parasitoids, finding its host depends on dispersal and host seeking abilities. Parasitoids can disperse at a scale of kilometers (Santos et al. 2011), and thus, gall parasitoids might not be limited by their dispersal ability. However, distance to the focal oak had a marginally significant effect on parasitoid density and hence spatial isolation may additionally decrease parasitoid density, but the effect appears to be much less important than the effect of phylogenetic isolation. Phylogenetic isolation of the trees might negatively affect seeking of gall hosts both directly and indirectly. The direct effect may be the same as discussed for ectophagous Lepidoptera parasitoids: phylogenetically distantly related tree neighbors may act as repellent cues for gall parasitoids and hide suitable gall hosts and their host trees. In that case the indirect effect of phylogenetic isolation on gall parasitoid density would operate via a decline in host density. However, we found that gall parasitoid density did not correlate significantly with the density of galls in simple regression analysis. This suggests that galls emit or induce few or no cues that their parasitoids could seek across long distances (as already suggested by Tooker and De Moraes, 2007). Indeed, galling insects are known to provoke no serious damage to the host plant (in Mattson et al. 1988). Instead, surprisingly, density of gall parasitoids was correlated to insect herbivory caused by ectophagous insect herbivores. Thus, gall parasitoids may have to seek cues induced by damage resulting from non-galling ectophagous insect herbivores. In addition, oak species probably emit few different defensive cues. Indeed, the cost of producing many defense volatile cues might be elevated owing to the important number of different insect-herbivore species supported by oaks. The indirect effect of host-tree phylogenetic isolation on density of gall parasitoids is hence mediated by herbivory of ectophagous insect herbivores. As insect herbivory

declines with phylogenetic isolation of host trees, gall parasitoids might face a severe problem in seeking the numerous gall hosts on these trees.

Tables and figures.

Table S10.1 Results of simple and multiple regression analysis testing the effect of phylogenetic isolation, gall density and insect herbivory on female parasitoid density in 2006. Note that budburst phenology data were not available for 2006.

Model	Variable	Df	T	p	Standardized regression coefficient
R ² =0.43	Phylogenetic isolation	15	-3.40	3*10 ⁻³	-0.66
R ² =0.05	gall density	15	-0.91	0.37	-0.22
R ² =0.38	Insect herbivory 2006	15	3.04	8*10 ⁻³	0.61
R ² =0.54 P=0.01	Phylogenetic isolation	13	-2.01	0.06	-0,51
	Insect herbivory 2006	13	1.59	0.13	0,42
	gall density 2006	13	1.13	0.27	0,26
Model 1 R ² =0.45 P=0.01	Phylogenetic isolation	14	-3.19	6*10 ⁻³	-0.73
	gall density 2006	14	0.61	0.54	0.14
Model 2 R ² =0.39 P=0.02	gall density 2006	14	0.61	0.54	0.15
	Insect herbivory 2006	14	2.83	0.01	0.70
Model 3 R ² =0.49 P=8*10 ⁻³	Phylogenetic isolation	14	-1.77	0.09	-0.44
	Insect herbivory 2006	14	1.28	0.21	0.32

Table S10.2 Results of simple and multiple regression analysis testing the effect of phylogenetic isolation, gall density and insect herbivory on female plus male parasitoid density in 2006.

Model	Variable	Df	T	p	Standardized regression coefficient
$R^2=0.49$	Phylogenetic isolation	15	-3.80	$1*10^{-3}$	-0.70
$R^2=0.06$	gall density	15	-1.01	0.32	-0.25
$R^2=0.48$	Insect herbivory 2006	15	3.76	$1*10^{-3}$	0.69
$R^2=0.44$ $P=0.04$	Phylogenetic isolation	13	-2.21	0,04	-0,50
	gall density 2006	13	1.40	0,18	0,28
	Insect herbivory 2006	13	2.24	0,04	0.52
Model 1 $R^2=0.50$ $P=7*10^{-3}$	Phylogenetic isolation	14	-3.52	$3*10^{-3}$	-0.76
	gall density 2006	14	0.62	0,53	0.13
Model 2 $R^2=0.50$ $P=6*10^{-3}$	gall density 2006	14	0.81	0,43	0.18
	Insect herbivory 2006	14	3.55	$3*10^{-3}$	0.79
Model 3 $R^2=0.58$ $P=1*10^{-3}$	Phylogenetic isolation	14	-1.87	0.08	-0.42
	Insect herbivory 2006	14	1.82	0.08	0.41

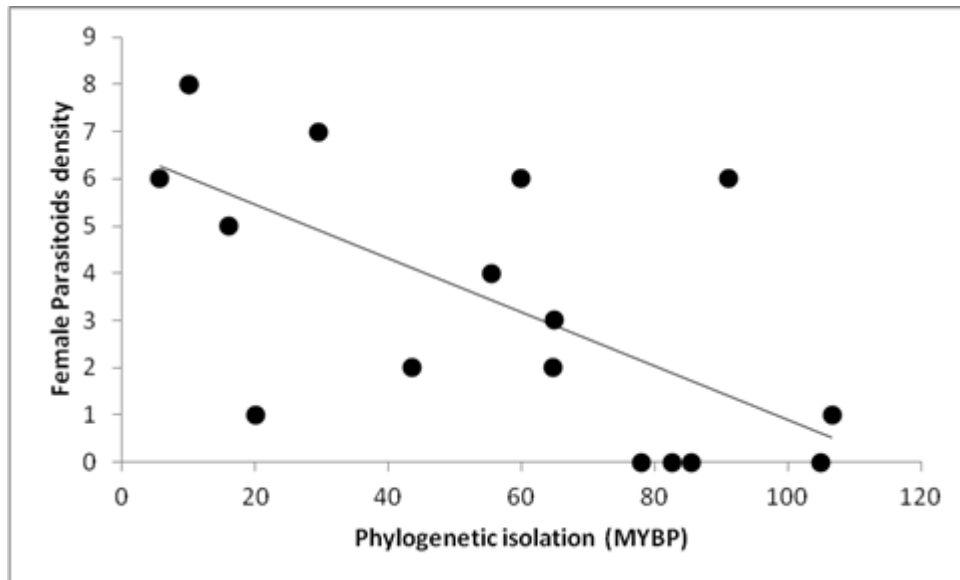
Table S10.3 Results of simple regression testing the effect of phylogenetic isolation and insect herbivory on gall density in 2006. Note that phenology was not available for 2006.

Variable	Df	T	p	R^2	Standardized regression coefficient
Phylogenetic isolation	16	2.31	0.03	0.25	0.50
Insect herbivory 2006	16	-2.40	0.02	0.26	-0.51
Phylogenetic isolation	15	0.96	0.34	0.30	0.27
Insect herbivory 2006	15	-1.13	0.27		-0.32

Figure S10.1 Relationships between phylogenetic isolation of focal oak trees from neighboring trees and female parasitoid density (a), and gall density (b). The statistics for these relationships are, respectively: (a) d.f. = 15, $r^2 = 0.43$, $t = -3.40$, $P = 3*10^{-3}$ and (b) d.f. = 16, $r^2 = 0.25$, $t = 2.31$, $P = 0.03$.

Figure S10.1

(a)



(b)

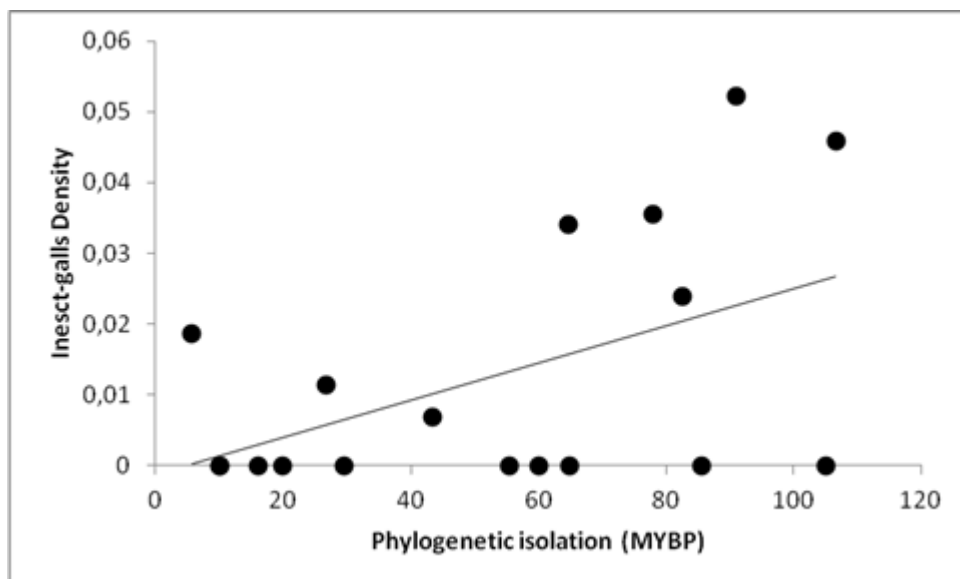
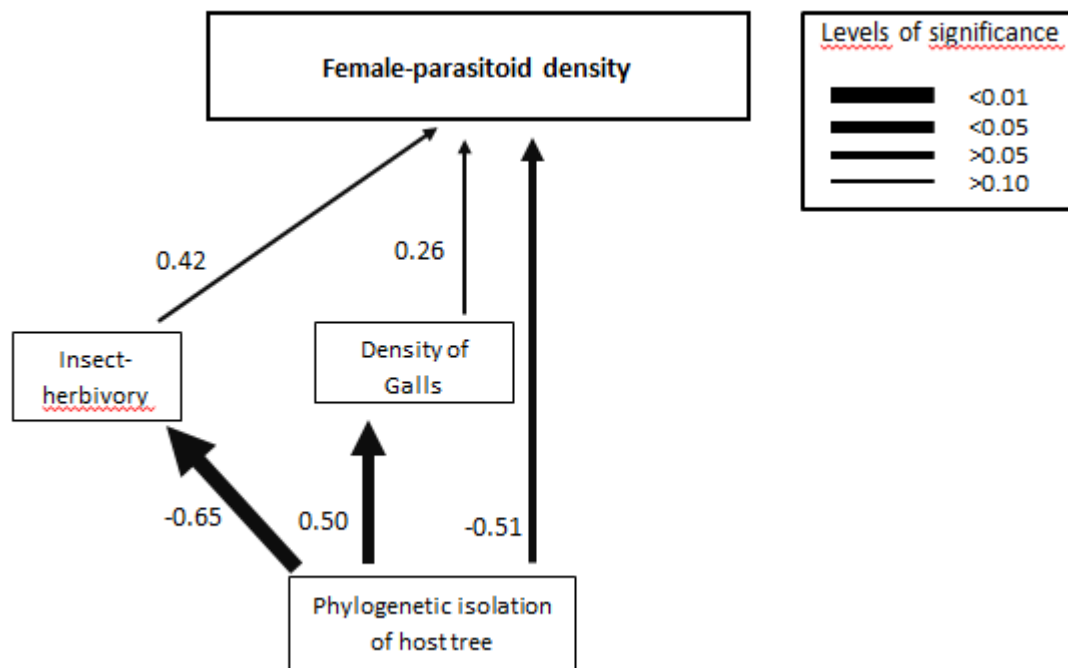


Figure S10.2 Path diagram representing the variables considered as the cause of gall-parasitoid density. Variables are insect herbivory, gall density and phylogenetic isolation. Direct effects are calculated by multiple regression analyses including all variables. Path coefficient (standardized regression coefficient) are indicated. Levels of significance of each relationship are indicated by the size of each arrow. The (direct) relationships depicted in these graphics were used to calculate indirect relationship as compound paths as explained in the Methods.



Bibliography:

Hayward A. & Stone G.N. (2005). Oak Gall wasp communities: Evolution and ecology. *Basic Appl. Ecol.*, 6, 435-443.

Mattson W.J. (1980). Herbivory in relation with plant nitrogen-content. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 11, 119-161.

Noyes, J.S. 2011. Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. <http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids>

Stone G.N., Schonrogge K., Atkinson R.J., Bellido D. & Pujade-Villar J. (2002). The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera : Cynipidae). *Annu. Rev. Entomol.*, 47, 633-668.

Tooker J.F. & De Moraes C.M. (2007). Feeding by Hessian fly [*Mayetiola destructor* (Say)] larvae does not induce plant indirect defenses. *Ecol. Entomol.*, 32, 153-161.

IV. Effet de l'isolement phylogénétique sur les mutualists: «A mouse may be of service to a lion: Mutualist support host colonizing a new neighborhood»

Co-auteurs: Pierre Emmanuel Courty, Hervé Jactel et Andreas Prinzing.

Résumé :

En raison d'un conservatisme phylogénétique de la niche écologique, les hôtes qui sortent de leurs niches ancestrales ont tendance à se retrouver entourés d'espèces hôtes phylogénétiquement éloignées. Des hôtes spatialement proches mais qui sont phylogénétiquement éloignés partageront probablement moins de mutualistes que des hôtes voisins phylogénétiquement proches. Cependant des individus hôtes entourés d'espèces phylogénétiquement éloignées pourraient connaître une dégradation de leurs conditions de niche et ainsi pourraient investir plus dans leurs interactions mutualistes. Nous émettons les hypothèses que l'isolement phylogénétique d'un hôte pourrait diminuer ou augmenter l'abondance et l'activité de ses mycorhizes. Afin de tester ces hypothèses, nous avons étudié les ectomycorhizes de chêne entourés de voisins phylogénétiquement éloignés. Nos résultats indiquent que les chênes hôtes entourés par des hôtes voisins phylogénétiquement éloignés augmentent l'abondance et l'activité des champignons ectomycorhiziens, probablement en réponse à la détérioration des conditions environnementales de niche. L'augmentation du soutien des mycorhizes pourrait ainsi aider les hôtes à coloniser un voisinage phylogénétiquement éloigné.

Abstract:

Because ecological niches tend to be phylogenetically conserved, hosts that leave his ancestral niche tend to be surrounded by phylogenetically distant hosts. Spatially adjacent hosts that are phylogenetically distant likely share less mutualists than more closely related neighbors. However, hosts surrounded by phylogenetically distant neighbours might face an overall

deterioration of their environmental niche conditions and might hence need to invest more into their mutualist partners. We hence hypothesize that phylogenetic isolation of hosts from their local neighbours could either decrease or increase abundance and activity of its mutualists. We test this hypothesis by studying ectomycorrhizal fungi (ECMf) of oak species surrounded by phylogenetically distant neighbours. Our results indicate that oak trees surrounded by phylogenetically distant neighbors increase abundance and activity of ECMf probably in response to the deterioration of environmental niche conditions. Increased investment into support by mutualists might hence help hosts to colonize novel neighbourhoods throughout evolution.

Introduction

Mutualistic interactions may be essential for numerous species. In the plant kingdom, interaction between plants and mutualist mycorrhizal fungi, for instance, may play a vital role for the nutrition and growth of plants (e.g. Brundett et al., 2002; Courty et al., 2007; Courty et al., 2010), for instance, in helping trees to mobilize nutrients from organic compounds by secreting oxidative and hydrolytic enzymes (Courty et al. 2007). However mutualistic relationships are exposed to threats. Spatial isolation between individual hosts of the same species, may lead to a decrease or a loss of mutualists and their ecological functions. For instance spatial isolation may drive the decrease of pollinators (Ghazoul and Shaanker, 2004) or predators of semivivores (Magrath et al. 2011) as well as ectomycorrhizal fungi (Dickie and Reich, 2005; Franck et al. 2009).

Mutualists are often host specific and may conserve their hosts through phylogeny (e.g. Shefferson et al. 2010) and their functions (e.g. Powell et al., 2009), thus phylogenetically close host-species may share mutualists and their function. It has been shown that host species surrounded by distantly related neighbors (i.e. phylogenetically isolated hosts) may have lower fungal pathogens (Gilbert and Webb, 2007) or lower herbivores load (Pearse and Hipp, 2009) than host species surrounded by closely related species, even within a given host species (Yguel et al. 2011). Thus, phylogenetic isolation of hosts from neighboring species could have the same consequences than spatial isolation of hosts, i.e. decrease of abundance and functions of the host's mutualists. However, some mutualists are not or only partly host-specific (Fontaine et al. 2009, Morris et al., 2009; Molina et al. 1992), and phylogenetically distant host species can harbor the same mutualist species. In that case, a host being surrounded by phylogenetically distant species might not lead to a decrease of host mutualists.

Furthermore host individuals that are surrounded by phylogenetically distant species, might face a deterioration of their abiotic living conditions. This is because phylogenetically distant neighbors will have distant trait state e.g. of after-life traits of litter (Weedon et al. 2009) creating extreme abiotic living conditions for their neighbors. Mutualistic interactions might be particularly important to compensate for such deteriorated living conditions (Hacker and Gaines, 1997; Dickie and Reich, 2005). In that case, hosts surrounded by phylogenetically distant species might need to invest more into mutualistic interactions. In consequence, abundance and function of mutualists might increase with phylogenetic isolation of a host.

Three contradictory hypotheses are hence plausible: within a given host species, interactions between hosts and mutualists (i) decrease, (ii) remain unchanged or (iii) increase with increasing

phylogenetic distance of the hosts from their neighbours. In this study we test these hypotheses for the case of plant-mycorrhiza interactions, specifically those between trees and ectomycorrhizal fungi.

The hypotheses can be tested using densities of ectomycorrhiza which may vary strongly between trees. A potential function of ectomycorrhizal fungi for trees in temperate regions is to facilitate the budburst in spring, when trees need to massively produce their leaves in a short time window between winter frost and the annual solar irradiation peak and improve annual carbon uptake (e.g. Morecroft et al. 2003). Trees may have to succeed this budburst without having their photosynthetic machinery running and often with only relatively insufficient resources stored in the plant body. For instance, oaks are considered to be heterotrophs for carbon during this period (Barbaroux et al., 2003; Courty et al., 2007) and rely on mycorrhizal fungi to provide part of the carbon needed. Ectomycorrhizal fungi facilitate budburst by excreting enzymes that decompose complex carbohydrates in the soil (Courty et al. 2007) - without such enzymes budburst might be significantly delayed (Barbaroux et al. 2003, Courty et al. 2007, Dickie et al. 2007). This enzymatic function of ectomycorrhizal fungi for their hosts might be provided by different species of ectomycorrhizal fungi, but might vary within ectomycorrhiza species among different niche environments (Conn and Dighton, 2000; Courty et al., 2005; Buée et al., 2007). This renders the enzymatic activity the most integrative parameter to test whether increasing phylogenetic distance of a tree to its neighbours corresponds to decreased, identical or increased support by ectomycorrhizal mutualists. It also permits to test whether ectomycorrhizal activity may help to facilitate budburst in trees that are surrounded by phylogenetically distant neighbours, i.e. permits these trees to compensate for the negative effect of deteriorated environmental conditions on budburst.

We studied the phylogenetic isolation of oak trees from their neighbours on the abundance of their Ectomycorrhizal fungi and their enzymatic activity linked to the mobilization of carbon source for budburst. We answered the following questions:

- Does phylogenetic isolation of oak trees change the abundance and activity of ectomycorrhizal fungi, and does this effect persist after accounting for abiotic living conditions of the trees?

Does phylogenetic isolation delay budburst phenology, and does Ectomycorrhizal enzymatic activity compensate for the negative effect of phylogenetic isolation on budburst phenology?

Methods

Site description and experimental design

Our study was conducted in the Forest of Rennes (surface area: 2000 ha), Brittany (France; See details in appendix S1). A total of 17 different species were in contact with the focal oaks studied within the forest canopy. Twenty two c. 60-year-old oaks were chosen for the study, with age estimated from tree circumference at breast height [total mean equal to 62.1 cm (SD = 16.7)] and on information from foresters. Trees were chosen by pair, with one tree in a canopy of mainly oak and beech, and the other tree in a canopy of mainly pine and holly, plus some other angiosperms. Because oaks in stand with pine are generally in the lower part of the canopy, we restricted ourselves to such low-canopy trees everywhere. Trees within a pair were close to each other (30–150 m apart), and belonged to the same oak species, *Quercus petraea* or *Q. robur* (note that these oak species are closely related and tend to hybridize). Pairs were spread across the entire forest. Such an approach of blocking has been recommended to partial out spatially varying environmental factors such as soil composition (Legendre et al. 2004).

Phylogenetic isolation of host trees within the surrounding canopy

For each focal oak, we quantified its mean phylogenetic distance to all neighboring trees with which its crown was in contact. Phylogenetic distances were extracted from published phylogenies (Appendix S2) following procedures applied previously (Vialatte et al., 2009; Yguel et al., 2011) and using phylogenetic classification (APG, 2009). In order to identify phylogenetic distance, we did not use the stem age (age of common ancestor) separating two species, but the younger of the crown ages of the two lineages involved, i.e. of the two ages of earliest diversification within the two lineages. For instance we rank the comparison between oak and pine species as a comparison between two classes, Gymnosperms and Angiosperms, between which the younger is approximately 140 million years old (the crown age of angiosperms), and the phylogenetic distance is hence 140 million years. We opted against stem ages, because they would give too much weight to the gymnosperm species and because the younger crown age represents biologically the time when the oak lineage and the other lineage started to be physically and physiologically distinct from the point of view of mycorrhizal fungi. Overall, mean phylogenetic isolation ranged from 10 to 125.66 million years, and varied continuously between these extremes.

Abundance and activity of ectomycorrhizal fungi (ECM)

For each focal tree, we took four sampling locations at a distance of 1.5m in the four cardinal directions from the trunk. One sample corresponds to a core of 4 cm in diameter by 10 cm deep (125 cm³ of soil). Samplings were repeated twice, before and after budburst, the 21th of March and the 21th of April 2011, respectively. Firstly, litter width was measured for each sample. Secondly, after removing soil, oak roots were soaked in tap water for 15 min before being gently washed. Roots and root apices from oak are distinguishable from those of the other tree species in our study by their shape and colour. Root apices of oaks were observed in water under a stereomicroscope (x40) and the total number of ECM root tips was recorded in each sample. Abundance of ECM root tips per tree corresponds to the mean abundance of root tips in the four soil samples. Then, ten ECM root tip was picked and analyzed using the high-throughput microplate assays firstly described by Pritsch et al. (2004) and Courty et al. (2005), and recently optimized by Pritsch et al. (2011). The potential enzymatic activities were measured successively on each ECM root tip: decomposition of cellulose and hemi-cellulose by β -glucosidase (EC 3.2.1.3) and β -glucuronidase (EC 3.2.1.31), and decomposition of phenolic substrates by laccase (EC 1.10.3.2) activities. Enzyme activities are expressed per unit of time and per ECM apex projected area as described in Pritsch et al. (2011). The mean activity of the 10 selected ECM apices was then calculated per root sample. Such enzymatic assays actually measure the total secreted potential activity of the ECM considering it as a mixed organ composed of plant and fungal tissues and associated bacteria. All these components potentially contribute to the measured enzymatic activities. Here, we did not try to distinguish among plant, fungal and bacterial activities, because the mobilization of nutrients by ECM and its benefits to the tree result from all these activities together (Courty et al., 2005; Cullings & Courty, 2009).

Identification of ECM fungi

ECM tips from the most common morphotypes were snap frozen and kept individually at -20°C in Eppendorf tubes. Subsequently, the fungal symbionts of the frozen root tips were identified by sequencing the ITS region of its ribosomal DNA. DNA was extracted using the REDExtract-N-Amp Plant PCR Kit (XNAP, Sigma, FRANCE) and the ITS region was amplified according to the procedure detailed in Courty et al. (2008). Fungal ITS sequences were edited with Sequencher 4.9, corrected and identified using the BLAST algorithm and the UNITE database (<http://unite.ut.ee/>). Sequences with more than 97% of similarity with the nearest blast or with the UNITE species name were ascribed to the related taxon (Appendix S3).

Humidity, temperature and pH of soil measurements

Humidity, temperature and pH of the soil were measured next to ectomycorrhizal fungi samples. Humidity and temperature were measured with a wet sensor (WET-2 - WET Sensor, AT delta-T devices) both in March and April while pH was measured only once between March and April. PH was measured with a pH meter on the soil samples immersed in water. Two statistical outliers from abiotic conditions data were identified graphically and excluded from the analyses presented in the results section. But including or not these outliers did not change the effect of phylogenetic isolation on abundance or activity of ectomycorrhizal fungi (see appendix S7).

Budburst phenology

Budburst phenology was measured, from the 15th March to the end of budburst in 2011, by scoring the phenological state of 10 random apical buds from the upper layer of the crown every 3 days. Phenological state corresponds to a three-rank scale described in Wesolowski and Rowinski, 2008. Then, we calculated the number of days required to reach the score of 20. The sampling procedure is detailed in Yguel et al. 2011 and in appendix S3. The effect of tree pair and the effect of the focal oak species on budburst phenology were non-significant (respectively d.f. = 11; $F=1.10$; $p=0.43$ and d.f. = 20; $F=2.66$; $p=0.11$). Hence, these variables were not included in further analyses.

Statistical analysis

We tested the effect of phylogenetic isolation of the host, the effect of the abiotic soil conditions (i.e. soil temperature, soil humidity, soil pH, litter width and more generally all factors related to tree pair) and the effect of focal oak species (i.e. *Q. petraea* or *Q. robur*) on abundance and activity of ectomycorrhizal fungi in simple linear regression models. We also performed generalized linear regression models in order to explore the effect of phylogenetic isolation on abundance and enzymatic activity while accounting the effect of the other co-variables. Only co-variables that scored at least marginally significant in simple regression analyses were included in the latter multiple regression analyses. In multiple regression analyses, standardized regression coefficients are presented instead of partial unstandardized regression coefficient, because the former allow better comparison between the effects of the independent variables (Schieleth, 2010).

We then tested the effect of phylogenetic isolation, and of ectomycorrhizal fungi abundance and enzymatic activity on budburst in simple regression analyses.

In order to test the hypothesis of a compensation of a negative effect of phylogenetic isolation on budburst phenology by enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi, we tested the effect of an interaction between phylogenetic isolation and the activity of a given enzyme on budburst.

Tests of interaction terms were based on a one-tailed hypothesis (see Introduction) and so were p-values. Ideally one would aim for an analysis explaining bud burst simultaneously by (i) phylogenetic isolation, (ii) all enzymatic activities and their respective interactions with phylogenetic isolation, and (iii) abiotic factors; for instance applying a path analysis approach. This, however, was not feasible due to strong multicollinearity between these variables, combined with a limited sample size. We hence made an effort to reduce the number of intercorrelated independent variables in the model explaining budburst. We excluded abiotic factors that in simple regression analyses they are less related with bud burst than are either phylogenetic isolation or enzymatic activities. Moreover, given the strong correlations among different enzymatic activities, we calculated separate models for separate enzymatic activities that were significant in simple regression analyses. Even in these models multicollinearity among independent variables was still strong. In order to decrease the remaining collinearity, we transformed data by centering the enzymatic activity, phylogenetic isolation and the interaction term by their own means. Using these transformed data increased the tolerance values (see Appendix S10) and hence decreased collinearity but did not change the significance of the interactions term. We used the method described in Aiken & West (1991) to illustrate graphically the interaction effect between the two quantitative predictors. This method uses the coefficients from the regression equation including the interaction term, i.e. $Y = a + b_1X + b_2Z + b_3XZ$, with a the ordinate at origin, b_1 the regression coefficient of phylogenetic isolation, b_2 the regression coefficient of the enzymatic activity, b_3 the regression coefficient of the interaction term between phylogenetic isolation and enzymatic activity, Y the budburst phenology, Z the enzymatic activity and X the phylogenetic isolation. The equation is then rearranged in order to obtain linear equation used for graphical illustration that corresponds to: $Y = (b_1 + b_3Z) X + (a + b_2Z)$. Three values of Z were used to represent low medium and high enzymatic activity; the mean of Z , plus and minus the standard deviation.

All statistical analyses were performed using Statistica Version 9.0 (Statsoft, Maisons-alfort, France).

Results

Phylogenetic isolation mostly increased Ectomycorrhizal fungi abundance even when accounting for abiotic conditions

Abundance of ectomycorrhizal fungi increased with phylogenetic isolation of host trees in simple regression analyses (Figure 1). This relationship was significant in April and marginally significant in March (Appendix S4). Tree species has also a significant effect on ectomycorrhizal fungi abundance in March but not in April. In the multiple regression analyses including also environmental condition as covariables, phylogenetic isolation had a significant effect on ectomycorrhizal fungi in April in all models. In March, the effect of phylogenetic isolation on ectomycorrhizal fungi abundance became marginally significant with tree species as co-variable in the model (See appendix S4).

Phylogenetic isolation mostly increased the enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi even when accounting for abiotic conditions

In simple regression analyses, phylogenetic isolation of the host tree increased significantly the laccase activity in March and April while phylogenetic isolation increased significantly β -glucuronidase activity only in April (Figure 2, Appendix S5). Phylogenetic isolation had no significant effect on β -glucosidase activity (Figure 2 and Appendix S5). When we removed two outliers, humidity of soil had a significant effect on β -glucuronidase activity in April and laccase activity in March and April (Appendix S7). Soil pH had also a significant effect on β -glucuronidase in April and laccase activity in March (Appendix S7). In all multiple regression analyses, phylogenetic isolation of the host tree was the only predictive variable which had a significant effect on β -glucuronidase activity in April, and on laccase activity in March and April (Appendix S5). Removing the two outliers did not change the results; in multiple regression analyses, phylogenetic was still the only predictive variable which had a significant effect on β -glucuronidase activity in April and laccase activity in March and April (Appendix S7). The effect of phylogenetic on β -glucosidase activity remained non-significant in March and in April (Appendix S5).

Phylogenetic isolation delayed budburst phenology

In simple regression analysis, the time to budburst increased significantly with the phylogenetic isolation of host trees (Figure 3 and Appendix S6). Time to budburst also increased significantly with

β -glucuronidase activity in March and laccase activity in March and April. Time to budburst neither increased nor decreased with β -glucosidase activity. Abundance of ectomycorrhizal fungi increased significantly with the time to budburst but surprisingly only in March (Appendix S6).

Enzymatic activity of Ectomycorrhizal fungi partly compensated for a delay of budburst in phylogenetically isolated trees

We performed multiple regression analyses including an interaction term between phylogenetic isolation of host and the activity of a given enzyme that were significant in simple regression analyses. From these multiple regression analyses, the interaction between laccase activity in April and phylogenetic isolation had a significant negative effect on time to budburst (See Table 1). Figure 4 illustrates the direction of the interaction. Phylogenetic isolation delayed budburst much less when laccase activity was high than when laccase activity was low. No other interactions tested were significant.

Discussion:

In our study, the phylogenetic isolation of host tree increased ectomycorrhizal fungi abundance, and even more strongly enzymatic activity, and it delayed budburst. Nevertheless, the increase of ectomycorrhizal activity appears to compensate in part the negative effect of phylogenetic isolation on budburst.

Why phylogenetic isolation increased ectomycorrhizal fungi abundance and enzymatic activity?

Phylogenetic isolation might affect ectomycorrhiza via a change of abiotic or biotic conditions. Among all abiotic factors measured, humidity and pH increased with phylogenetic isolation (see appendix S8). These abiotic factors had an effect on abundance or activity of ectomycorrhizal fungi (See also Bago, 1998, Courty et al. 2007). Nevertheless these abiotic effects are probably negligible

compared to biotic factors, because effects of abiotic factors were less significant than the effect of phylogenetic isolation or not significant at all when accounting for phylogenetic isolation.

In our study, biotic factors are probably the most important factors that affect abundance and enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi. Increasing phylogenetic isolation of host trees corresponds to a change in neighboring tree species composition. This change is hence reflected in the litter composition that may affect composition and activity of ectomycorrhizal fungi (Conn and Dighton 2000, Tedersoo et al. 2003, Buee et al. 2007). Increasing phylogenetic isolation from neighboring species may correspond to an increasing difference in chemical composition between oak litter and that of the neighbors. This is for instance the case of gymnosperm neighbours compared to angiosperm neighbours, both occurring in our study system. Angiosperm species are known to be more easily decomposed than gymnosperm species litter (Weedon et al. 2009; Osono 2009). In particular, gymnosperm lignin could be more recalcitrant to decomposition than the angiosperm lignin (Osono, 2011) as well as gymnosperm hemicellulose relative to that of angiosperms (Weedon et al. 2009). Also, lignin concentration may be higher in gymnosperm compared to angiosperm (Weedon et al. 2009). In addition, some molecules like phosphorus or nitrogen are less concentrated in gymnosperm litter than in that of angiosperms, (Weedon et al. 2009). Thus, we suggest that the quality and the decomposition rate of litter decrease with phylogenetic isolation of oak trees. This was also supported in our study by the fact that the phylogenetic isolation of host tree increases the litter width (See appendix S8). Phylogenetic isolation might hence decrease mobility of carbon in cellulose, hemicellulose and lignin. We should hence observe an increase in enzymatic activity related to decomposition of cellulose, hemicellulose and lignin degradation (Conn and Dighton, 2000; Courty et al. 2007). That was what we observed; enzymatic activity strongly increased with phylogenetic isolation. We note that the relationship between phylogenetic isolation and enzymatic activity was not solely due to an increase of gymnosperms. In fact, studying only oaks exclusively surrounded by angiosperm neighbors gives nearly the same results (see appendix S9).

Another biotic condition could be invoked to explain the positive relationship between phylogenetic isolation and ectomycorrhizal fungi abundance. Fungivores might be repelled by phylogenetic isolation of host trees, for instance, because phylogenetic isolation might decrease the palatability of surrounding or associated fungi (see also Bertheau et al. 2010). Hence phylogenetic isolation might decrease the abundance of fungivores. Consequently, herbivory of ectomycorrhizal fungi might decrease with phylogenetic isolation. In fact, a comparable process was already demonstrated for insect herbivores and insect-herbivory of leaves (Vialatte et al. 2009; Yguel et al. 2011).

Why time to budburst increased with phylogenetic isolation, and how this might be compensated by enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi

Carbon sources are required to achieve the budburst but carbon reserves of oak are depleted before budburst. Hence, oak need an additional source of carbon to achieve budburst that associated ectomycorrhizal fungi could mobilize partly from the litter decomposition (Courty et al. 2007). As previously mentioned, phylogenetic isolation of trees is associated with a change of litter composition, and hence an increasingly difficult decomposition of litter, increasing the time to budburst. Increasing enzymatic activities of ectomycorrhizal fungi might in part compensate the delaying effect of phylogenetic isolation on budburst phenology. This is what we found for laccase: increased laccase activity decreases the negative effect of phylogenetic isolation on budburst.

Why budburst was still delayed?

Budburst was still delayed in phylogenetically isolated trees. Several reasons might explain this result. On the one hand, ectomycorrhizal fungi might be unable to sufficiently compensate the deterioration of the abiotic and biotic environments with phylogenetic isolation. On the other hand, in mycorrhizal symbiosis, trees might have to reward ectomycorrhizal fungi equally for their services (Kiers and Van der Heijden, 2006; Kiers et al. 2011). As we said above, oak trees need the support of ectomycorrhizal fungi to budburst. Hence, trees might have to pay more for the high activity of their ectomycorrhizal fungi under high phylogenetic isolation than for the low activity of ectomycorrhizal fungi under low phylogenetic isolation. High costs for mutualists may limit tree performance and delay budburst.

Evolutionary implications

Our study shows that phylogenetic isolation of host plants may increase recruitment and activity of mutualists in response to a deterioration of the plant's environmental conditions. According to Wiens et al. 2010, hosts that are phylogenetically isolated from their neighbors may represent hosts that leave their ancestral niche. If leaving its ancestral niche exposes an individual to deterioration of environmental condition, we hence might hypothesize that a stronger support from mutualist is required for plants to colonize a new niche (Brundett et al. 2002). Such support from mutualists may be a case of niche construction i.e. a process that improves the response to a niche factor affecting the fitness of individuals (Kylafis and Loreau, 2011). In our study, niche construction was achieved by an increase in interaction with ectomycorrhizal fungi that improved decomposition of litter and hence nutrient uptake. Inversely, ectomycorrhizal fungi may profit from host-plants

breaking with niche conservatism due to the increase of host plant investments in support by mutualists. This is consistent with the idea that mutualistic interactions between fungi and plants have been evolved particularly during colonization of new niches (Brundrett et al. 2002). Here, we showed that such macroevolutionary processes may operate locally at the scale of individual trees within a forest.

References

- Aiken, L. S., & West, S. G. (1991). *Multiple regression: Testing and interpreting interactions*. Newbury Park, London, Sage.
- Bago B., Azcon-Aguilar C. & Piche Y. (1998). Architecture and developmental dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown under monoxenic conditions. *Mycologia*, 90, 52-62.
- Barbaroux C., Breda N. & Dufrene E. (2003). Distribution of above-ground and below-ground carbohydrate reserves in adult trees of two contrasting broad-leaved species (*Quercus petraea* and *Fagus sylvatica*). *New Phytol.*, 157, 605-615.
- Bertheau C., Brockerhoff E.G., Roux-Morabito G., Lieutier F. & Jactel H. (2010). Novel insect-tree associations resulting from accidental and intentional biological 'invasions': a meta-analysis of effects on insect fitness. *Ecol. Lett.*, 13, 506-515.
- Brundrett M.C. (2002). Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol.*, 154, 275-304.
- Buee M., Courty P.E., Mignot D. & Garbaye J. (2007). Soil niche effect on species diversity and catabolic activities in an ectomycorrhizal fungal community. *Soil Biol. Biochem.*, 39, 1947-1955.
- Conn C. & Dighton J. (2000). Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 32, 489-496.
- Courty P.E., Pouysegur R., Buee M. & Garbaye J. (2006). Laccase and phosphatase activities of the dominant ectomycorrhizal types in a lowland oak forest. *Soil Biol. Biochem.*, 38, 1219-1222.
- Courty P.E., Breda N. & Garbaye J. (2007). Relation between oak tree phenology and the secretion of organic matter degrading enzymes by *Lactarius quietus* ectomycorrhizas before and during bud break. *Soil Biol. Biochem.*, 39, 1655-1663.
- Courty P.E., Buee M., Diedhiou A.G., Frey-Klett P., Le Tacon F., Rineau F., Turpault M.P., Uroz S. & Garbaye J. (2010). The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: New perspectives and emerging concepts. *Soil Biol. Biochem.*, 42, 679-698.
- Dickie I.A. & Reich P.B. (2005). Ectomycorrhizal fungal communities at forest edges. *J. Ecol.*, 93, 244-255.

- Dickie I.A., Montgomery R.A., Reich P.B. & Schnitzer S.A. (2007). Physiological and phenological responses of oak seedlings to oak forest soil in the absence of trees. *Tree Physiol.*, 27, 133-140.
- Fontaine C., Thebault E. & Dajoz I. (2009). Are insect pollinators more generalist than insect herbivores? *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.*, 276, 3027-3033.
- Frank J.L., Anglin S., Carrington E.M., Taylor D.S., Viratos B. & Southworth D. (2009). Rodent dispersal of fungal spores promotes seedling establishment away from mycorrhizal networks on *Quercus garryana*. *Botany*, 87, 821-829.
- Gessner M.O., Swan C.M., Dang C.K., McKie B.G., Bardgett R.D., Wall D.H. & Hattenschwiler S. (2010). Diversity meets decomposition. *Trends Ecol. Evol.*, 25, 372-380.
- Ghazoul J. Shaanker, U. 2004. Sex in space: Pollination among spatially isolated Plants. *Biotropica*, 36, 128-130.
- Gilbert G.S. & Webb C.O. (2007). Phylogenetic signal in plant pathogen-host range. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104, 4979-4983.
- Hacker S.D. & Gaines S.D. (1997). Some implications of direct positive interactions for community species diversity. *Ecology*, 78, 1990-2003.
- Kiers E.T., Duhamel M., Beesetty Y., Mensah J.A., Franken O., Verbruggen E., Fellbaum C.R., Kowalchuk G.A., Hart M.M., Bago A., Palmer T.M., West S.A., Vandenkoornhuyse P., Jansa J. & Bucking H. (2011). Reciprocal Rewards Stabilize Cooperation in the Mycorrhizal Symbiosis. *Science*, 333, 880-882.
- Kiers E.T. & van der Heijden M.G.A. (2006). Mutualistic stability in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Exploring hypotheses of evolutionary cooperation. *Ecology*, 87, 1627-1636.
- Magrach et al. 2011. Land-use and edge effects unbalance seed dispersal and predation interactions under habitat fragmentation.
- Molina R., Massicotte H.B. & Trappe J.M. (1992). Ecological role of specificity phenomena in ectomycorrhizal plant-communities. Potentials for interplant linkages and guild development.. In: *Mycorrhizas in Ecosystems*. C a B International Wallingford, pp. 106-112.
- Morecroft M.D., Stokes V.J. & Morison J.I.L. (2003). Seasonal changes in the photosynthetic capacity of canopy oak (*Quercus robur*) leaves: the impact of slow development on annual carbon uptake. *Int. J. Biometeorol.*, 47, 221-226.

Morris M.H., Perez-Perez M.A., Smith M.E. & Bledsoe C.S. (2009). Influence of host species on ectomycorrhizal communities associated with two co-occurring oaks (*Quercus* spp.) in a tropical cloud forest. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 69, 274-287.

Osono T. (2011). Diversity and functioning of fungi associated with leaf litter decomposition in Asian forests of different climatic regions. *Fungal Ecol.*, 4, 375-385.

Pearse I.S. & Hipp A.L. (2009). Phylogenetic and trait similarity to a native species predict herbivory on non-native oaks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106, 18097-18102.

Powell J.R., Parrent J.L., Hart M.M., Klironomos J.N., Rillig M.C. & Maherali H. (2009). Phylogenetic trait conservatism and the evolution of functional trade-offs in arbuscular mycorrhizal fungi. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.*, 276, 4237-4245.

Shefferson R.P., Cowden C.C., McCormick M.K., Yukawa T., Ogura-Tsujita Y. & Hashimoto T. (2010). Evolution of host breadth in broad interactions: mycorrhizal specificity in East Asian and North American rattlesnake plantains (*Goodyera* spp.) and their fungal hosts. *Mol. Ecol.*, 19, 3008-3017.

Weedon J.T., Cornwell W.K., Cornelissen J.H.C., Zanne A.E., Wirth C. & Coomes D.A. (2009). Global meta-analysis of wood decomposition rates: a role for trait variation among tree species? *Ecol. Lett.*, 12, 45-56.

TABLES AND FIGURES

Figure 1. Relationship between phylogenetic isolation of host trees and abundance of ectomycorrhizal fungi in March and April measured as the number of ectomycorrhizal fungi per surface unit. The statistics for these relationships are respectively: d.f. = 20, $r^2 = 0.16$, $t = 1.99$, $P = 0.06$; d.f. = 20, $r^2 = 0.18$, $t = 2.16$, $P = 0.04$.

Figure 1.

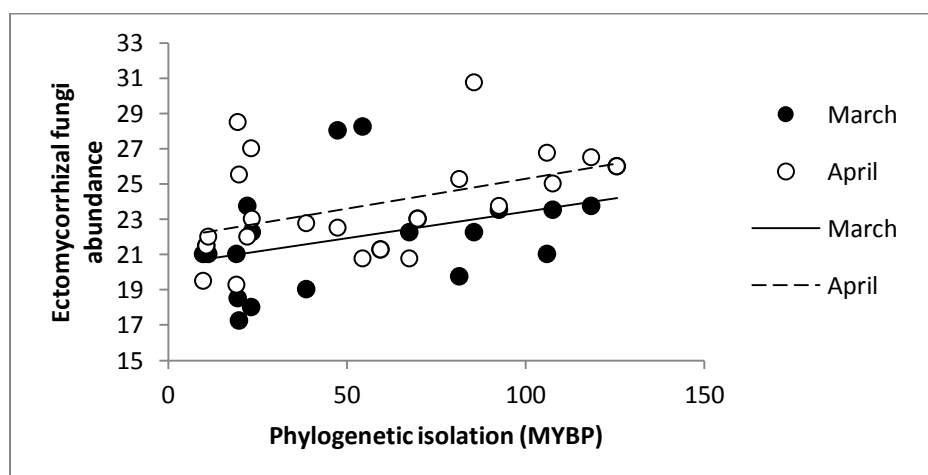


Figure 2. Relationship between phylogenetic isolation of host tree and laccase activity in March and April (a), glucuronidase activity in March and April (b), and Glucosidase activity in March and April (c). A given enzymatic activity is the mean enzymatic activity for 10 ectomycorrhizal root tips and expressed per unit of time and per ECM apex projected area in $\text{pmol min}^{-1} \text{mm}^{-2}$. The statistics for these relationships are respectively: (a) March d.f. = 20, $r^2 = 0.54$, $t = 4.92$, $P = 0.54$; April d.f. = 20, $r^2 = 0.78$, $t = 8.61$, $P = 3 \times 10^{-8}$; (b) March d.f. = 20, $r^2 = 0.02$, $t = -0.73$, $P = 0.47$; April d.f. = 20, $r^2 = 0.89$, $t = 12.96$, $P = 3 \times 10^{-11}$; (c) March d.f. = 20, $r^2 = 0.04$, $t = -0.98$, $P = 0.33$; April d.f. = 20, $r^2 = 0.09$, $t = -1.43$, $P = 0.16$.

Figure 2.a

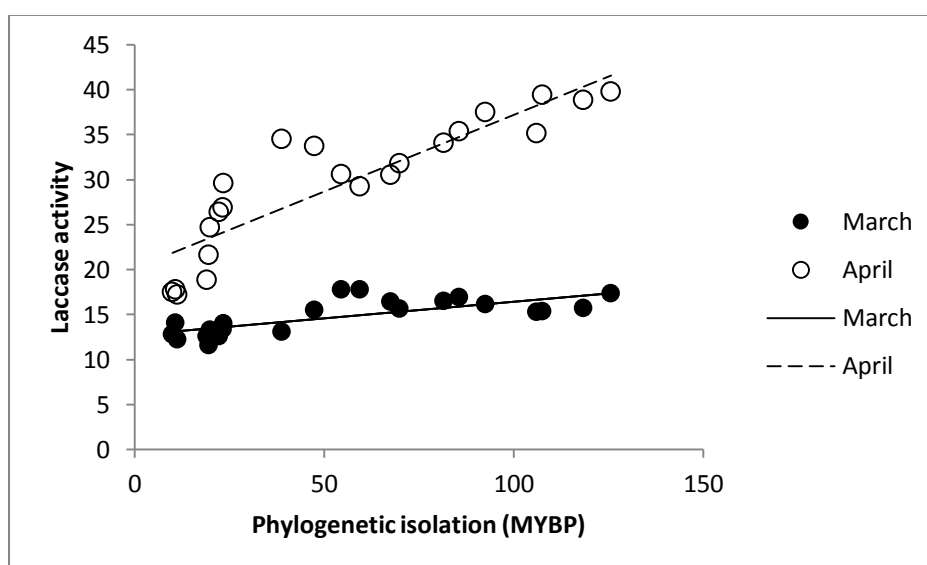


Figure 2.b

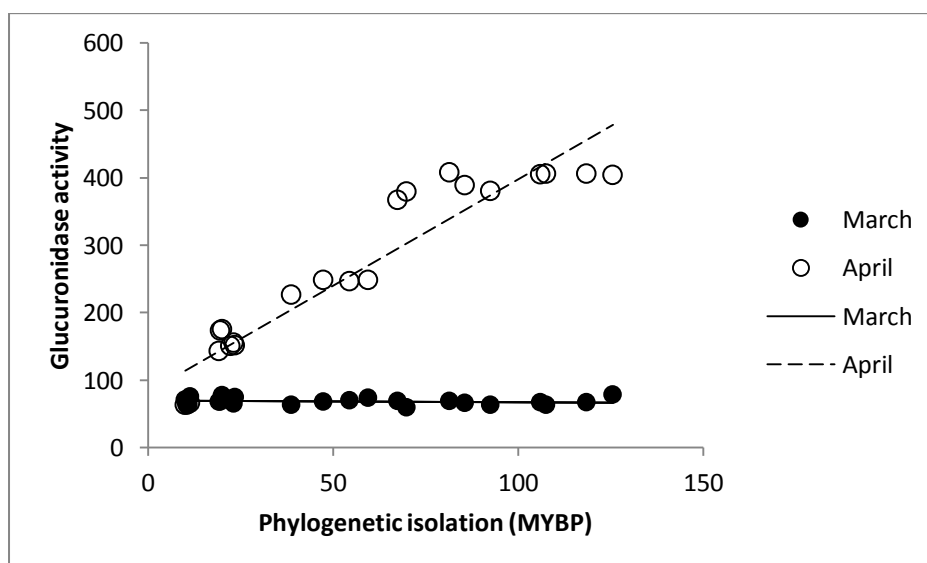


Figure 2.c

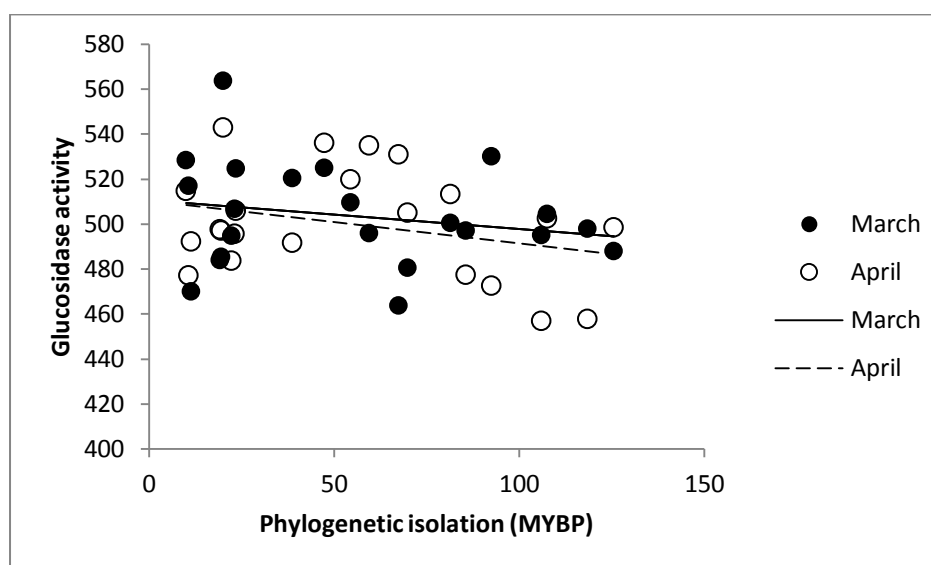


Figure 3. Relationship between phylogenetic isolation and time to budburst. The statistics of the relationship are : $df=20$; $t=2.34$; $p=0.02$; $r^2=0.21$

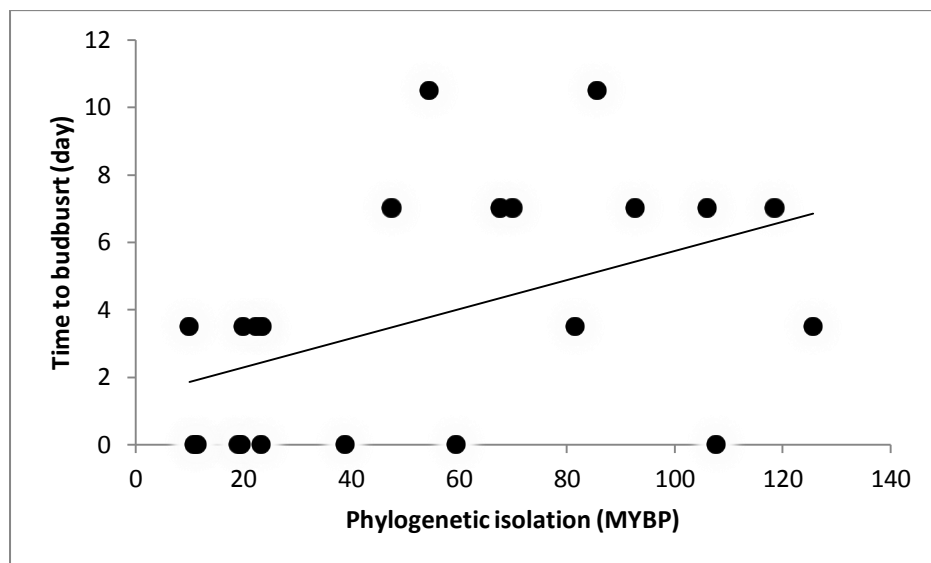
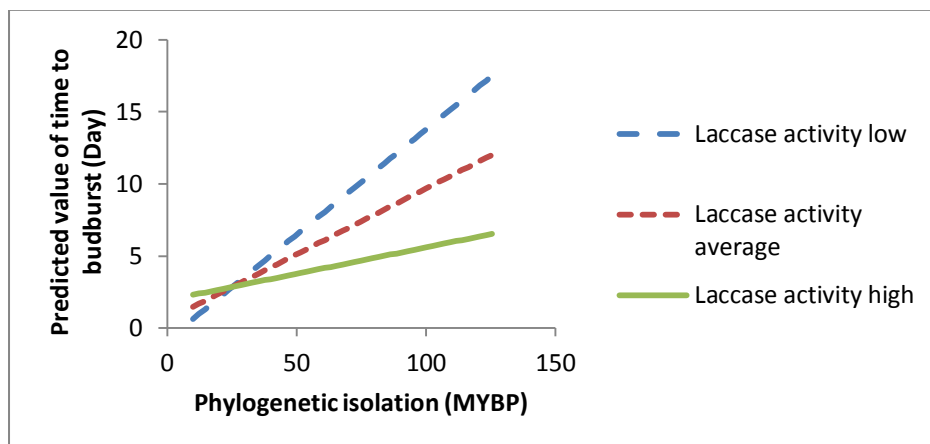


Table 1. Multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation, accounting only for enzymatic activity showing significant relationship to budburst in simple regression analysis, and the interaction term on the time to budburst. Data are centered by their means (see appendix S10 for analysis of uncentered data). Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables). P-values are for one tailed hypotheses.

		<i>Effect on time to budburst</i>				
		Df	T	P	Standardized regression coefficient	Tolerance
Model 1 P=0.06 r ² =0.31	Phylogenetic isolation		0.08	0.46	0.07	0.04
	Glucuronidase (April)	18	0.55	0.29	0.46	0.05
	Glucuronidase (April)		-0.69	0.24	-0.19	0.45
	*Phylogenetic isolation					
Model 2 P=0.03 R ² =0.37	Phylogenetic isolation		0.44	0.33	0.13	0.39
	Laccase (March)	18	1.41	0.08	0.44	0.35
	Laccase (March) *Phylogenetic isolation		-0.72	0.24	-0.15	0.77
Model 3 P=0.04 R ² =0.35	Phylogenetic isolation		1.67	0.05	0.98	0.10
	Laccase (April)	18	-0.79	0.26	-0.45	0.10
	Laccase (April) *Phylogenetic isolation		-1.85	0.04	-0.50	0.48

Figure 4. Representation of the interaction effect between phylogenetic isolation and Laccase activity in April on the time to budburst: Phylogenetic isolation strongly delays budburst if laccase activity is low but only little if laccase activity is high. See table 1 for tests statistics.



SUPPORTING INFORMATION OF CHAPTER IV

Appendix S1. Details on the Rennes Forest and the species composition of trees surrounding the focal oaks studied.

Appendix S2. Phylogenetic distance between oak and neighboring species

Appendix S3. Species identity of the most abundant ectomycorrhizal fungi found in all samples

Appendix S4. Effect of phylogenetic isolation, abiotic soil conditions and tree species on ectomycorrhizal fungi abundance in simple and multiple regression analyses

Appendix S5. Effect of phylogenetic isolation, abiotic soil conditions and tree species on enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi in simple and multiple regression analyses

Appendix S6. Effect of phylogenetic isolation, abundance and enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi on budburst phenology in simple regression analyses

Appendix S7. Relationship between humidity or pH and enzymatic activity excluding the two outliers,

Appendix S8. Effect of phylogenetic isolation on soil humidity, soil temperature, soil pH and litter width, in March and April

Appendix S9. Effect of phylogenetic isolation on enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi, considering only the trees without gymnosperm neighbours

Appendix S10. Effect of phylogenetic isolation, enzymatic activities and the interaction term on the time to budburst analyzed without any transformation of the data.

Appendix S1. Details on the Rennes Forest and the species composition of trees surrounding the focal oaks studied.

The Forest of Rennes is dating back to at least the 12th century. As with all forests in Western and Central Europe, this forest is under the influence of human activities, such as wood management and the effects of surrounding agricultural land use. The Forest of Rennes is split into parcels, mostly managed, following the shelterwood cutting system (Borghetti & Giannini 2001). Each parcel is planted typically either with oak (*Quercus petraea* or *Q. robur*) or pine (*Pinus sylvestris*). As in numerous European temperate forests, the other main tree species in the neighborhood of our focal oaks are *Ilex aquifolium*, *Fagus sylvatica*, *Castanea sativa*, *Ulmus minor*, *Alnus glutinosa*, *Sorbus torminalis*, *Corylus avellana*, *Carpinus betulus*, *Populus tremula*, *Salix caprea*, *Abies alba*, *Rhamnus frangula*, *Tilia cordata*, *Betula pendula*, *Prunus avium*, *Malus sylvestris* and *Pyrus pyraeaster*. All these species are native to Europe and were in contact with the focal oaks.

Appendix S2. Phylogenetic distance between oak and neighboring species

The below table gives phylogenetic distance in million years before present between oak and the other tree species in the communities. Distance corresponds to the smaller of the two crown ages of the two lineages involved (i.e. of oak and of the other tree species) at the corresponding phylogenetic rank (inferred from Magallon *et al.* 1999, Manos *et al.* 1999, Wikström *et al.* 2001, APG 2003, and 2009, Poinar *et al.* 2007). This table is extracted from Vialatte *et al.* 2010 and Yguel *et al.* 2011. See Methods for further explanations.

Species	Phylogenetic rank of separation with oak						distance
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	Spermatophytes	-	-	-	-	-	140
<i>Pinus sylvestris</i>	Spermatophytes	-	-	-	-	-	140
<i>Abies alba</i>	Spermatophytes	-	-	-	-	-	140
<i>Ilex aquifolium</i>	Angiosperms	Asterids	-	-	-	-	128
<i>Tilia cordata</i>	Angiosperms	Rosids	Malvids	-	-	-	89.5
<i>Salix caprea</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Malpighiales	-	-	68
<i>Populus tremula</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Malpighiales	-	-	68
<i>Rhamnus frangula</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Prunus avium</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Sorbus torminalis</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Pyrus pyraeaster</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Malus spp.</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Ulmus minor</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Rosales	-	-	58.5
<i>Alnus glutinosa</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Corylus avellana</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Betula pendula</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Carpinus betulus</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Betulaceae	-	54
<i>Fagus sylvatica</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Fagaceae	Fagus	40
<i>Castanea sativa</i>	Angiosperms	Rosids	Fabids	Fagales	Fagaceae	Castanea	40

References:

- Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* 141, 399–436.
- Angiosperm Phylogeny Group. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* **161**: 105–121
- Magallon, S., Crabe, P. R. & Herendeen, P. S. 1999. Phylogenetic pattern, diversity, and diversification of eudicots. *Ann. Missouri Bot. Garden* 86, 1407–1419.
- Manos, P. S., Doyle, J. J. & Nixon, K. C. 1999 Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Mol. Phyl. Evol.* 12, 333–349.
- Poinar, G., Chambers, K. L. & Buckley, R. 2007 *Eoepigynia Burmensis* Gen. and Sp. Nov., an early Cretaceous Eudicot flower (Angiospermae) in Burmese Amber. *J. Bot. Res. Inst. Texas* 1, 91–96.
- Savard L., Li P., Strauss S.H., Chase M.W., Michaud M. & Bousquet J. (1994). Chloroplast and nuclear genes-sequences indicate late Pennsylvanian time for the last common ancestor of extant seed plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 91, 5163-5167.
- Wikström, N., Savolainen, V. & Chase, M. W. 2001 Evolution of the angiosperms: calibrating the family tree. *Proc. R. Soc. Lond. B* 268, 2211–2220.

Appendix S3. Species identity of the most abundant ectomycorrhizal fungi found in all samples

Operational taxonomic units (OTU) found at Rennes study site. Identification of OTU by ITS sequence includes accession number, closest species as found by BLAST against GenBank database and BLAST expected value of the most informative sequence for each OTU.

‡BLAST expected value represents the number of sequence matches expected by random chance (the smaller the value, the better the match to the reported NCBI database sequence).

OTU	Length of ITS region (bp)	BLAST expected value‡	GenBank accession number	Closest species
<i>Amanita virosa</i>	705	0.0	AB015676	
<i>Cenococcum geophilum</i>	1088	0.0	JN943891	
<i>Cortinarius anthracynus</i>	612	0.0	AY669670	
<i>Elaphomyces</i> #1	675	4.e ⁻¹¹¹	JF907986	<i>Elaphomyces citrinus</i>
<i>Lactarius camphoratus</i>	758	0.0	DQ422009	
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	778	0.0	JF908324	
<i>Lactarius subdulcis</i>	773	0.0	HM189800	
<i>Lactarius tabidus</i>	767	0.0	HM189819	
<i>Russula nigricans</i>	619	0.0	AB291762	
<i>Russula</i> #1	765	4.e ⁻¹⁰⁷	AF418605	<i>Russula delica</i>
	721	0.0	AF274769	<i>Pseudotomentella</i>
<i>Telephoraceae</i> #1				<i>mucidula</i>
<i>Tomentella botryoides</i>	530	0.0	AF272912	
<i>Tomentella stuposa</i>	629	0.0	AY635168	
<i>Tomentella sublilacina</i>	620	0.0	AJ889982	
<i>Trechispora</i> #1	719	1.e ⁻⁸⁰	EU909231	Trechispora hymenocystis
<i>Tuber puberulum</i>	542	0.0	AJ969625	
<i>Xerocomus pruinatus</i>	726	0.0	HM190109	

Appendix S4. Effect of phylogenetic isolation, abiotic soil conditions and tree species on ectomycorrhizal fungi abundance in simple and multiple regression analyses

Table S4.1 Effect of phylogenetic isolation and environmental conditions on ectomycorrhizal fungi abundance in March and April, in simple regression analyses.

Independent variable	March				April			
	Df	T	P	R ²	Df	T	P	R ²
Phylogenetic isolation	20	1.99	0.06	0.16	20	2.16	0.04	0.18
Soil pH	20	-1.48	0.15	0.09	20	-0.27	0.78	3*10 ⁻³
Soil temperature	20	-0.41	0.68	0.008	20	0.37	0.71	6*10 ⁻³
Soil humidity	20	-1.55	0.13	0.10	20	0.61	0.54	0.01
Tree pair	11	F=1.35	0.31	NA	11	F=0.53	0.83	NA
Focal oak species	20	F=5.22	0.03	NA	20	F=0.03	0.85	NA

Table S4.2 Multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation on mycorrhizal fungi abundance in March accounting for the effect of different combinations of environmental conditions. Environmental conditions included are at least marginally significant in simple regression. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on mycorrhizal fungi abundance</i>				
		Df	T	p	Standardize d regression coefficient	Tolerance
Model 2 p=0.10 r ² =0.35	Phylogenetic isolation	17	1.20	0.24	0.33	0.77
	Focal oak species		-1.78	0.09	-0.46	0.55
	Humidity (March)		-0.76	0.45	-0.19	0.25
	pH		0.50	0.61	0.22	0.20

Model 3	Phylogenetic isolation		1.75	0.09	0.34	0.97
p=0.06	Focal oak species	18	-1.62	0.12	-0.37	0.70
r ² =0.32	pH		-0.24	0.80	-0.05	0.69
Model 4	Phylogenetic isolation		1.48	0.15	0.30	0.86
p=0.05	Focal oak species	18	-1.93	0.06	-0.38	0.94
r ² =0.34	Humidity (March)		-0.63	0.53	-0.13	0.84
Model 6	Phylogenetic isolation		1.83	0.08	0.34	0.97
p=0.02	Focal oak species	19	-2.13	0.04	-0.40	0.97
r ² =0.32						

Table S4.3 Multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation on mycorrhizal fungi abundance in April accounting for the effect of different combination of environmental conditions. Environmental conditions included are at least marginally significant in simple regression. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

<i>Effect on mycorrhizal fungi abundance</i>						
		Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
Model 1	Phylogenetic isolation		3.33	0.003	0.67	0.80
p=0.03	Focal oak species	17	1.23	0.23	0.27	0.66
r ² =0.44	Humidity (April)		2.70	0.01	0.74	0.43
	pH		-2.06	0.05	-0.60	0.37
Model 2	Phylogenetic isolation		2.08	0.05	0.44	0.97
p=0.23	Focal oak species	18	0.57	0.57	0.14	0.70
r ² =0.20	pH		-0.27	0.78	-0.06	0.69
Model 3	Phylogenetic isolation		2.71	0.01	0.58	0.84
p=0.08	Focal oak species	18	0.15	0.87	0.03	0.93
r ² =0.30	Humidity (March)		1.63	0.11	0.35	0.80
Model 4	Phylogenetic isolation		3.13	0.005	0.63	0.81
p=0.02	Humidity (March)	18	2.46	0.02	0.66	0.45
r ² =0.39	pH		-1.64	0.11	-0.41	0.52

Appendix S5. Effect of phylogenetic isolation, abiotic soil conditions and tree species on enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi in simple and multiple regression analyses

Table S5.1 Effect of phylogenetic isolation and environmental conditions on Glucuronidase activity in March and April, in simple regression analyses.

Independent variable	March				April			
	Df	T	P	R ²	Df	T	P	R ²
Phylogenetic isolation	20	-0.73	0.47	0.02	20	12.96	$3 \cdot 10^{-11}$	0.89
Soil pH	20	0.70	0.49	0.02	20	-0.41	0.68	$8 \cdot 10^{-3}$
Soil temperature	20	-0.84	0.41	0.03	20	1.84	0.07	0.14
Soil humidity	20	0.11	0.35	0.04	20	-1.45	0.15	0.09
Tree pair	11	F=0.13	0.99	NA	11	F=0.18	0.99	NA
Focal oak species	20	F=1.25	0.27	NA	20	F=0.06	0.79	NA

Table S5.2

Multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation on Glucuronidase activity in March, accounting for the effect of different combinations of environmental conditions. Environmental conditions included are at least marginally significant in simple regression. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on glucuronidase activity (March)</i>				
		Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
Model 1	Phylogenetic isolation		-0.41	0.68	-0.10	0.82
p=0.80	pH	18	0.03	0.97	0.01	0.35
r ² =0.05	Humidity (March)		0.38	0.70	0.15	0.31
Model 2	Phylogenetic isolation		-0.62	0.54	-0.14	0.97
p=0.06	pH	19	0.58	0.56	0.13	0.97
r ² =0.32						

Table S5.3

Multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation on Glucuronidase activity in April, accounting for the effect of different combinations of environmental conditions. Environmental conditions included are at least marginally significant in simple regression. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		Effect on glucuronidase activity (April)				
		Df	T	p	Standardized	Tolerance
					regression coefficient	
Model 1 P=2*10 ⁻⁸ r ² =0.90	Phylogenetic isolation	17	10.96	3*10 ⁻⁹	0.95	0.75
	Humidity (April)		0.64	0.52	0.06	0.44
	Temperature (April)		0.80	0.43	0.07	0.85
	pH		0.15	0.87	0.01	0.52
Model 2 P=3*10 ⁻⁹ r ² =0.90	Phylogenetic isolation	18	11.64	8*10 ⁻¹⁰	0.93	0.86
	Temperature (April)		0.74	0.46	0.05	0.87
	pH		0.82	0.41	0.06	0.97
Model 3 P=2*10 ⁻⁹ r ² =0.90	Phylogenetic isolation	18	11.42	1*10 ⁻⁹	0.95	0.77
	Humidity (April)		1.05	0.30	0.08	0.82
	Temperature (April)		0.83	0.41	0.06	0.85

Table S5.4 Effect of phylogenetic isolation and environmental conditions on Laccase activity in March and April, in simple regression analyses.

Independent variable	March				April			
	Df	T	P	R ²	Df	T	P	R ²
Phylogenetic isolation	20	4.92	$8 \cdot 10^{-5}$	0.54	20	8.61	$3 \cdot 10^{-8}$	0.78
Soil pH	20	-0.55	0.58	0.01	20	-0.71	0.48	0.01
Soil temperature	20	0.58	0.56	0.01	20	0.85	0.40	0.03
Soil humidity	20	-1.5	0.13	0.10	20	-1.44	0.16	0.09
Tree pair	11	F=0.26	0.97	NA	11	F=0.50	0.85	NA
Focal oak species	20	F=0.25	0.61	NA	20	F=0.28	0.60	NA

Table S5.5

Multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation on Laccase activity in March, accounting for the effect of different combinations of environmental conditions. Environmental conditions included are at least marginally significant in simple regression. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on laccase activity (March)</i>				
		Df	T	P	Standardized regression coefficient	Tolerance
Model 1 P= $4 \cdot 10^{-3}$ r ² =0.57	Phylogenetic isolation	17	4.02	$8 \cdot 10^{-4}$	0.70	0.82
	Humidity (March)		-0.86	0.39	-0.25	0.27
	Temperature (March)		-0.66	0.51	-0.11	0.80
	pH		0.63	0.53	0.17	0.34

Model 2	Phylogenetic isolation		4.59	$2*10^{-4}$	0.75	0.92
$P=1*10^{-3}$	Temperature (March)	18	-0.39	0.70	-0.06	0.91
$r^2=0.55$	pH		-0.09	0.92	-0.01	0.95
Model 3	Phylogenetic isolation		4.30	$4*10^{-4}$	0.72	0.85
$P=1*10^{-3}$	Humidity (March)	18	-0.60	0.55	-0.10	0.78
$r^2=0.56$	Temperature (March)		-0.55	0.58	-0.09	0.84

Table S5.6

Multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation on Laccase activity in April, accounting for the effect of different combinations of environmental conditions. Environmental conditions included are at least marginally significant in simple regression. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on laccase activity (April)</i>				
		Df	T	P	Standardize d regression coefficient	Tolerance
Model 1	Phylogenetic isolation		7.93	$4*10^{-7}$	0.96	0.75
$P=5*10^{-6}$	Humidity (April)	17	0.63	0.53	0.10	0.44
$r^2=0.81$	Temperature (April)		-1.19	0.24	-0.13	0.85
	pH		-0.61	0.54	-0.08	0.52
Model 2	Phylogenetic isolation		8.36	$1*10^{-7}$	0.93	0.86
$P=1*10^{-6}$	Temperature (April)	18	-1.30	0.20	-0.14	0.87
$r^2=0.80$	pH		-0.25	0.79	-0.03	0.97
Model 3	Phylogenetic isolation		8.06	$2*10^{-7}$	0.94	0.77
$P=1*10^{-6}$	Humidity (April)	18	0.29	0.76	0.03	0.82
$r^2=0.80$	Temperature (April)		-1.23	0.23	-0.13	0.85

Table S5.7 Effect of phylogenetic isolation and environmental conditions on Glucosidase activity in March and April, in simple regression analyses.

Independent variable	March				April			
	Df	T	P	R ²	Df	T	P	R ²
Phylogenetic isolation	20	-0.98	0.33	0.04	20	-1.43	0.16	0.09
Soil pH	20	0.93	0.36	0.04	20	0.91	0.37	0.04
Soil temperature	20	-2.12	0.04	0.18	20	-0.43	0.66	9*10 ⁻³
Soil humidity	20	1.26	0.21	0.07	20	0.92	0.36	0.04
Tree pair	11	F=0.88	0.57	NA	11	F=0.61	0.77	NA
Focal oak species	20	F=1.30	0.26	NA	20	F=1.29	0.26	NA

Table S5.8

Multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation on Glucosidase activity in March, accounting for the effect of different combinations of environmental conditions. Environmental conditions included are at least marginally significant in simple regression. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on glucosidase activity (March)</i>				
		Df	T	P	Standardize d regression coefficient	Tolerance
Model 1 P=0.37 r ² =0.21	Phylogenetic isolation	17	-0.42	0.67	-0.10	0.82
	Humidity (March)		-0.03	0.97	-0.01	0.27
	Temperature (March)		-1.60	0.12	-0.38	0.80
	pH		0.35	0.72	0.13	0.34
Model 2 P=0.22 r ² =0.21	Phylogenetic isolation	18	-0.45	0.65	-0.09	0.92
	Temperature (March)		-1.75	0.09	-0.38	0.91
	pH		0.56	0.57	0.12	0.95
Model 3 P=0.23 r ² =0.20	Phylogenetic isolation	18	-0.37	0.71	-0.08	0.85
	Humidity (March)		0.43	0.67	0.10	0.78
	Temperature (March)		-1.60	0.12	-0.36	0.84
Model 4 P=0.11 r ² =0.20	Temperature (March)	19	-1.88	0.07	-0.40	0.93
	Phylogenetic isolation		-0.53	0.60	-0.11	0.93

Table S5.9

Multiple regression analyses testing the effect of phylogenetic isolation on Glucosidase activity in April, accounting for the effect of different combinations of environmental conditions. Environmental conditions included are at least marginally significant in simple regression. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on glucosidase activity (April)</i>				
		Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
Model 1 P=0.68 r ² =0.11	Phylogenetic isolation	17	-1.13	0.27	-0.29	0.75
	Humidity (April)		-0.08	0.93	-0.02	0.44
	Temperature (April)		0.08	0.93	0.02	0.85
	pH		0.56	0.58	0.17	0.52
Model 2 P=0.50 r ² =0.11	Phylogenetic isolation	18	-1.21	0.24	-0.28	0.86
	Temperature (April)		0.09	0.92	0.02	0.87
	pH		0.70	0.49	0.15	0.97
Model 3 P=0.30 r ² =0.11	Phylogenetic isolation	19	-1.29	0.21	-0.28	0.97
	pH		0.71	0.48	0.15	0.97

Appendix S6. Effect of phylogenetic isolation, abundance and enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi on time to budburst in simple regression analyses

Table S6.1 Effect of phylogenetic isolation and enzymatic activity in March and April on the budburst phenology, in simple regression analyses.

Independent variable	Df	T	P	R ²
Phylogenetic isolation of host plant	20	2,34	0,02	0.21
Glucuronidase March	20	-0,51	0,61	0.01
Glucuronidase April	20	2,82	0,01	0.28
Laccase March	20	3,30	0,003	0.35
Laccase April	20	2,40	0,02	0.22
Glucosidase March	20	0,12	0,89	0.0008
Glucosidase April	20	-0,31	0,75	0.004
Abundance of ectomycorrhizal fungi March	20	3,05	0,006	0.31
Abundance of ectomycorrhizal fungi April	20	0,81	0,42	0.03
Temperature March	20	1,233136	0,231823	0.07
Humidity March	20	-1,58991	0,127538	0.11
Temperature April	20	1,244842	0,227580	0.07
Humidity April	20	-1,87402	0,075613	0.14
pH	20	-0,469925	0,643492	0.01

Appendix S7. Relationship between humidity or pH and enzymatic activity excluding the two outliers in simple and multiple regression analyses. These analyses compare to Appendix S5 in where outliers were not excluded. Note that conclusion on the effect of phylogenetic isolation remain unchanged.

Table S7.1 Effect of humidity in March and April on enzymatic activity in March and April in simple regression analyses. The effect of humidity on enzymatic activity are tested in the same month.

<i>Effect of humidity on:</i>	March				April			
	Df	T	P	R ²	Df	T	P	R ²
Glucuronidase activity	18	1.10	0.28	0.06	18	-2.98	7*10 ⁻³	0.33
Laccase activity	18	-3.09	6*10 ⁻³	0.34	18	-2.13	0.04	0.20
Glucosidase activity	18	1.48	0.15	0.10	18	0.58	0.56	0.01

Table S7.2 Effect of pH in March and April on enzymatic activity in March and April in simple regression analyses.

<i>Effect of pH on:</i>	March				April			
	Df	T	P	R ²	Df	T	P	R ²
Glucuronidase activity	18	1.24	0.23	0.07	18	-2.11	0.04	0.19
Laccase activity	18	-2.30	0.03	0.22	18	-1.29	0.21	0.08
Glucosidase activity	18	1.44	0.16	0.10	18	0.43	0.66	0.01

Table S7.3 Effect of phylogenetic isolation and environmental conditions on Glucuronidase activity in March. Multiple models including phylogenetic isolation were tested. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on glucuronidase activity (March)</i>				
		Df	T	p	Standardize d regression coefficient	Tolerance
Model 1	Phylogenetic isolation		0.19	0.84	0.05	0.63
p=0.63	Humidity (March)	16	0.59	0.56	0.18	0.60
r ² =0.09	pH		0.78	0.44	0.21	0.72
Model 2	Phylogenetic isolation		-0.08	0.93	-0.02	0.80
p=0.49	pH	17	1.04	0.31	0.27	0.80
r ² =0.07						

Table S7.4 Effect of phylogenetic isolation and environmental conditions on Glucuronidase activity in April. Multiple models including phylogenetic isolation were tested. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on glucuronidase activity (April)</i>				
		Df	T	p	Standardized regression coefficient	Tolerance
Model 1	Phylogenetic isolation		8.71	2*10 ⁻⁷	0.89	0.57
P=1*10 ⁻⁷	Humidity (April)	15	-0.10	0.92	-0.01	0.62
r ² =0.90	temperature (April)		1.17	0.25	0.10	0.76
	pH		0.02	0.98	2*10 ⁻³	0.71
Model 2	Phylogenetic isolation		10.25	1*10 ⁻⁸	0.90	0.73
P=1*10 ⁻⁸	temperature (April)	16	1.22	0.23	0.10	0.76
r ² =0.90	pH		0.007	0.99	6*10 ⁻⁴	0.74
Model 3	Phylogenetic isolation		9.20	8*10 ⁻⁸	0.89	0.60
P=1*10 ⁻⁸	Humidity (April)	16	-0.10	0.92	-9*10 ⁻³	0.64
r ² =0.90	temperature (April)		1.25	0.22	0.10	0.81

Table S7.5 Effect of phylogenetic isolation and environmental conditions on Laccase activity in March. Multiple models including phylogenetic isolation were tested. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on laccase activity (March)</i>				
		Df	T	p	Standardize d regression coefficient	Tolerance
Model 1 $P=5*10^{-3}$ $r^2=0.60$	Phylogenetic isolation	15	2.55	0.02	0.52	0.63
	Humidity (March)		-1.36	0.19	-0.30	0.51
	Temperature (March)		-1.07	0.29	-0.20	0.73
	pH		-0.87	0.39	-0.16	0.70
Model 2 $P=4*10^{-3}$ $r^2=0.55$	Phylogenetic isolation	16	3.42	$3*10^{-3}$	0.64	0.78
	Temperature (March)		-0.59	0.56	-0.10	0.84
	pH		-1.18	0.25	-0.22	0.74
Model 3 $P=2*10^{-3}$ $r^2=0.58$	Phylogenetic isolation	16	2.86	0.01	0.56	0.66
	Humidity (March)		-1.61	0.12	-0.35	0.54
	Temperature (March)		-0.95	0.35	-0.17	0.74

Table S7.5 Effect of phylogenetic isolation and environmental conditions on Laccase activity in April. Multiple models including phylogenetic isolation were tested. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on laccase activity (April)</i>				
		Df	T	p	Standardize d regression coefficient	Tolerance
Model 1 $P=4*10^{-5}$ $r^2=0.79$	Phylogenetic isolation	15	6.49	$1*10^{-5}$	0.99	0.57
	Humidity (April)		0.50	0.62	0.07	0.62
	Temperature (April)		-0.68	0.50	-0.09	0.76
	pH		0.62	0.53	0.08	0.71

Model 2	Phylogenetic isolation		7.26	2×10^{-6}	0.96	0.73
$P=1 \times 10^{-5}$	Temperature (April)	16	-0.74	0.46	-0.09	0.76
$r^2=0.79$	pH		0.74	0.46	0.09	0.74
Model 3	Phylogenetic isolation		6.63	5×10^{-6}	0.97	0.60
$P=1 \times 10^{-5}$	Humidity (April)	16	0.63	0.53	0.09	0.64
$r^2=0.79$	Temperature (April)		-0.88	0.38	-0.11	0.81

Appendix S8. Effect of phylogenetic isolation on soil humidity, soil temperature, soil pH and litter width, in March and April, in simple regression analyses.

Dependent variable	Df	T	P	R ²
Litter width March	20	2.27	0.03	0.20
Litter width April	20	2.77	0.01	0.27
Soil pH	20	-0.71	0.48	0.02
Soil pH (Without the two outliers)	18	-2.11	0.04	0.19
Soil temperature March	20	1.17	0.25	0.06
Soil humidity March	20	-1.71	0.10	0.12
Soil humidity March (Without the two outliers)	18	-2.99	$7 \cdot 10^{-3}$	0.33
Soil temperature April	20	1.68	0.10	0.12
Soil humidity April	20	-1.93	0.06	0.15
Soil humidity April (Without the two outliers)	18	-3.10	$6 \cdot 10^{-3}$	0.34

Appendix S9. Effect of phylogenetic isolation on abundance and enzymatic activity of ectomycorrhizal fungi, considering only the trees without gymnosperm neighbours

Table S9 Effect of phylogenetic isolation on enzymatic activity and abundance of ectomycorrhizal fungi in March and April, in simple regression analyses, considering only trees without gymnosperm neighbors.

<i>Effect of phylogenetic isolation on:</i>	March				April			
	Df	T	P	R ²	Df	T	P	R ²
Glucuronidase activity	7	0.29	0.77	0.01	7	6.08	4*10 ⁻⁴	0.84
Laccase activity	7	0.15	0.88	3*10 ⁻³	7	5.24	1*10 ⁻³	0.79
Glucosidase activity	7	0.20	0.84	5*10 ⁻³	7	0.36	0.72	0.01
Ectomycorrhizal abundance	7	-0.37	0.71	0.01	7	1.55	0.16	0.25

Appendix S10. Effect of phylogenetic isolation, significant enzymatic activities and the interaction term on the time to budburst analysed without any transformation of the data.

Table S10. Results of multiple regression analysis testing the effect of phylogenetic isolation, significant enzymatic activity and the interaction term on the time to budburst. Data are not centered by their means. Tolerances characterize the mutual independence among independent variables (i.e. 1 if an independent variable is entirely uncorrelated to the other independent covariables).

		<i>Effect on time to budburst</i>				
		Df	T	P (one tailed)	Standardized regression coefficient	Tolerance
Phylogenetic isolation						
Model 1	Glucuronidase (April)		0.41	0.34	0.66	0.01
P=0.06	Glucuronidase (April)	18	1.49	0.07	0.89	0.10
r ² =0.31	*Phylogenetic isolation		-0.69	0.24	-1.05	0.01
Phylogenetic isolation						
	Laccase (March)		0.73	0.23	2.12	0.004
P=0.03	Laccase (March) *Phylogenetic	18	1.77	0.04	0.81	0.16
R ² =0.37	isolation		-0.72	0.24	-2.27	0.003
Phylogenetic isolation						
P=0.04	Laccase (April) Laccase (April)	18	0.93	0.18	0.38	0.20
R ² =0.32	*Phylogenetic isolation		-1.85	0.04	-3.23	0.01

V. Discussion générale

a. Bilan pour le chêne sortant de sa niche et de son voisinage phylogénétiquement proche

Comme le démontrent ces 3 études, l'isolement phylogénétique d'un chêne modifie l'importance de ses interactions biotiques, et ce tout au long de la chaîne trophique à laquelle il appartient. Les changements dans l'intensité des interactions biotiques avec l'isolement phylogénétique ont très probablement des effets positifs et négatifs sur la fitness du chêne. Ce changement de fitness du chêne peut favoriser son maintien ou son exclusion de la nouvelle niche.

Diminution de la phytophagie dû à la perte des ectophages « ancestraux » sans recrutement de nouveaux ectophages

Dans la première partie, nous avons pu observer que l'isolement phylogénétique peut avoir des conséquences bénéfiques pour la fitness du chêne. En effet, l'isolement phylogénétique du chêne entraîne une diminution de l'abondance de ses phytophages ainsi qu'une diminution de la pression de phytophagie qu'ils exercent sur le chêne. L'isolement phylogénétique du chêne permettrait donc la mise en œuvre d'une résistance par association ou « associational resistance » (voir Atsatt et O'Dowd, 1976 ; Jactel et Brockerhoff, 2007 ; Barbosa et al., 2009). En effet, les plantes voisines spatialement mais phylogénétiquement distantes peuvent agir comme une barrière à la colonisation de la plante cible, par exemple via l'émission de composés répulsifs empêchant la localisation du chêne par une partie de ses phytophages. Les performances du chêne pourraient ainsi être meilleures dans la nouvelle niche, et la sélection naturelle pourrait alors favoriser le maintien du chêne dans cette nouvelle niche. La colonisation d'environnements composés d'espèces phylogénétiquement distantes pourrait donc être favorisée. A long terme, l'adaptation à des conditions biotiques et abiotiques différentes pourraient conduire in fine à une différenciation évolutive et à une spéciation (Agrawal et al. 2006 ; Références dans Nyman 2010). De plus, des différences de phénologie entre arbres situés dans la nouvelle niche et la niche ancestrale pourraient réduire les échanges de pollens et ainsi les flux de gènes entre ces arbres, renforçant la différenciation et potentiellement favorisant une spéciation. A différence de l'hypothèse développée par Kozak et Wiens (2006) qui proposent que le conservatisme de niche serait à l'origine d'évènements de spéciations de type allopatriques, nous proposons qu'une sortie de la niche

ancestrale d'une partie de la population pourrait aussi promouvoir une spéciation, ici de type écologique, et géographiquement sympatrique. Cette spéciation serait liée à des pressions de sélection biotiques différentes entre la niche ancestrale et les nouvelles niches, caractérisées par un environnement composé d'espèces phylogénétiquement éloignées.

Diminution de la pression des ennemis naturels sur les phytophages dû à la perte des ennemis « ancestraux » des phytophages sans recrutement d'ennemis « nouveaux »

Dans la deuxième partie, nous avons pu observer que l'isolement phylogénétique du chêne peut diminuer la pression de parasitisme exercée sur les phytophages. En revanche, la pression de prédation exercée par les oiseaux ne change pas avec l'isolement phylogénétique du chêne. Cette diminution de la pression de parasitisme des phytophages avec l'isolement phylogénétique du chêne hôte pourrait avoir des conséquences potentiellement négatives pour le chêne. En effet, si les phytophages parviennent à trouver les chênes isolés phylogénétiquement et profitent d'un « enemy release », les dégâts occasionnés par ces phytophages pourraient alors être plus forts sur ces chênes phylogénétiquement isolés. L'effet de résistance par association pourrait alors se transformer en une susceptibilité par association (« associational susceptibility », Brown et Ewel, 1987 ; White et Whitham, 2000) pour les chênes phylogénétiquement isolés. Ainsi la sélection naturelle favoriserait les chênes non-isolés phylogénétiquement et le maintien ou la conservation de la niche ancestrale. A l'inverse pour les phytophages, la sélection favoriserait ceux qui suivraient et se nourriraient sur des chênes phylogénétiquement isolés où la pression de parasitisme seraient moins forte. A long terme, la diminution du taux de parasitisme des phytophages sur des chênes phylogénétiquement isolés pourrait conduire à une différenciation entre populations de phytophages vivant sur chênes isolés et non isolés phylogénétiquement, et potentiellement à une spéciation entre ces phytophages (Winkler et Mitter, 2008 ; Losos et Ricklefs, 2009 ; Nyman, 2010). Les pressions de sélection pourraient différer selon l'isolement phylogénétique du chêne pouvant créer une mosaïque géographique de coévolution entre le chêne et ses phytophages (Thompson, 1999). Pour les phytophages, le mécanisme favorisant une potentielle spéciation se rapprocherait plus de ce que proposent Wiens et al., où le conservatisme de niche ou d'hôte associé à un événement d'isolement géographique auraient une grande importance dans l'étape initiale de différenciation. En effet, on pourrait alors parler d'une spéciation de type péripatrique (voir petit glossaire) entre les populations se trouvant sur des hôtes isolés et celles se trouvant sur des hôtes non isolés phylogénétiquement, si les plantes phylogénétiquement éloignées de la plante hôte ancestrale représentent une barrière micro-géographique, de type olfactive par exemple.

Compensation de la dégradation des conditions de niche avec l'isolement phylogénétique par les ectomycorhizes

Dans la troisième et dernière partie, nous avons pu montrer que l'isolement phylogénétique du chêne tend à augmenter l'abondance et l'activité des ectomycorhizes liée à la décomposition de la litière. En effet, l'isolement phylogénétique s'accompagnerait d'une détérioration des conditions biotiques et abiotiques de niche pour le chêne, en particulier une augmentation de la difficulté à décomposer la litière. Cette décomposition de la litière est en particulier indispensable à l'acquisition de nutriments nécessaire au débourrement des chênes au printemps. Les ectomycorhizes pourraient en partie compenser cette détérioration de la litière par l'augmentation de leurs activités enzymatiques. Les mycorhizes peuvent être alors considérées comme un « soutien » aux chênes phylogénétiquement isolés qui pourrait permettre aux chênes de se maintenir en condition d'isolement phylogénétique. Bien que le débourrement du chêne soit toujours décalé en condition d'isolement phylogénétique fort, l'intensification des interactions entre le chêne et ses mutualistes avec l'isolement phylogénétique pourrait être favorable à une sortie de niche.

Compensation des effets positifs et négatifs de la sortie de niche ?

Ces différentes études ont ainsi montré que l'isolement phylogénétique du chêne peut modifier les interactions au sein de la chaîne trophique à laquelle il appartient. En fonction de leur nature, l'augmentation ou la diminution de l'intensité de ces interactions peuvent promouvoir ou non le maintien des chênes en condition d'isolement phylogénétique. Pour les chênes, les effets négatifs liés à l'isolement phylogénétique, comme une diminution de la pression de parasitisme sur les phytophages, semblent être compensés par les effets positifs, comme une diminution de la phytophagie et une augmentation du soutien par les mutualistes. Bien que n'ayant pas été directement mesurée, la fitness globale du chêne ne semble alors pas être meilleure ou moins bonne en condition d'isolement phylogénétique. On peut par exemple observer que la croissance annuelle des chênes, facteur pouvant être lié à la fitness, n'est pas significativement différente entre les chênes isolés et non isolés phylogénétiquement (Voir annexe 2). Une diminution de fitness entre l'ancienne et la nouvelle niche pourrait favoriser un conservatisme de niche, mais cela ne semble donc pas être le cas. La sélection ne semble alors pas contrariée une sortie de niche, et une colonisation de la niche est donc probable par dissémination de propagules. Cependant la sélection ne favorise pas non plus la nouvelle niche au dépend de l'ancienne. Il n'y aurait alors pas de changement de niche mais plus probablement une expansion de niche, dans un premier temps (Pearman et al. 2008).

Il reste toutefois des limites à notre étude. Tout d'abord un échantillon plus important, composé d'arbres d'âge plus proche, et appartenant à la strate dominante, pourrait être nécessaire pour améliorer la qualité de nos résultats concernant l'effet de l'isolement phylogénétique sur la croissance. En effet, d'une part les différences d'âge entre arbres échantillonnés compliquent les comparaisons. D'autre part, les arbres en sous étages sont sous l'effet de la compétition pour la lumière, qui, selon les espèces et potentiellement selon l'isolement phylogénétique, varie d'intensité dans le temps et dans l'espace compliquant ainsi les interprétations (e.g. compétition chêne/chêne non équivalente à une compétition chêne/pin). Par exemple, une étude réalisée sur la croissance du chêne en chênaie et pinède, dans la forêt domaniale d'Orléans, montre par ailleurs que le chêne comme le pin produiraient plus de bois en mélange qu'en peuplements purs (Pérot et al., 2011, RDV technique n°33-34, été-automne 2011, ONF ; voir aussi la revue de Richards et al., 2010 et de Cadotte et al., 2008). En outre, l'étude d'autres traits plus directement reliés à la fitness, tels que la production de glands ou le taux de survie et de développement de ces glands pourrait être nécessaire pour quantifier la fitness plus précisément. De plus, nous nous sommes restreints aux interactions au sein de la chaîne trophique en standardisant les effets de compétition pour la lumière. En effet, ces interactions plante-plante incluent des compétitions pour d'autres ressources que la lumière, mais aussi des interactions positives, qui pourraient influencer la fitness de la plante (Agrawal et al., 2006) en condition d'isolement phylogénétique. Les coûts des défenses contre les phytophages peuvent augmenter par exemple en présence de compétiteurs (Agrawal, 2000). A l'inverse, la combinaison d'une herbivorie au niveau des racines et d'une compétition interspécifique entre plantes pour les ressources peut diminuer l'abondance et la pression d'autres guildes d'herbivores (Agrawal, 2004). Les interactions positives pourraient être aussi importantes que les interactions négatives (Callaway et Walker, 1997). Ainsi la prise en compte d'interactions de nature différente pourrait permettre de préciser les facteurs influant sur la fitness du chêne en condition d'isolement phylogénétique et les facteurs qui favorisent ou non sa sortie de niche. Enfin, la niche abiotique du chêne n'a que partiellement été prise en compte. Nous avons pris en compte la température, l'humidité de l'air, ainsi que le pH et l'humidité du sol), mais pas d'autres paramètres telle que la composition chimique des sols. Il serait alors intéressant d'étudier la relation entre isolement phylogénétique et niche abiotique. Des études supplémentaires concernant les changements de niche abiotique du chêne pourraient donc être nécessaires afin de compléter l'étude des conséquences d'un changement d'environnement phylogénétique. Nous reparlerons de plusieurs de ces aspects dans les perspectives.

b. Conséquences pour le conservatisme de niche d'une espèce végétale: dans quelles situations va-t-il être fort, ou faible ?

b.1 Effet du rapport entre phytophages, ennemis des phytophages et compensation par les mycorhizes

Nous avons vu que le conservatisme de niche peut être favorisé, ou au contraire, contrarié, en fonction de la nature des interactions qui sont modifiées lors de la sortie de niche. Nos résultats nous permettent de proposer des conditions générales qui favorisent ou non la sortie de niche ancestrale d'une plante hôte.

C'est la fitness globale de la plante en condition d'isolement phylogénétique qui doit promouvoir ou non une sortie de sa niche ancestrale. Cette fitness globale, résultante de la somme des effets positifs et négatifs liés aux différentes interactions biotiques et abiotiques, pourrait être potentiellement plus élevée en condition d'isolement phylogénétique intermédiaire (i.e. dans notre système, cela correspond à un isolement phylogénétique moyen de 60 millions d'années). En effet, un contrôle encore élevé des phytophages par leurs ennemis, combiné à une phytophagie déjà réduite et un soutien déjà élevé des mycorhizes pourraient être obtenus en condition intermédiaire d'isolement phylogénétique. De plus, la différence entre l'ancienne et la nouvelle niche (i.e. isolement phylogénétique) pourrait être inversement proportionnelle à la probabilité de se maintenir dans cette nouvelle niche (Nyman, 2010). Une nouvelle niche trop différente diminuerait la fitness. En d'autre terme plus la niche sera différente, moins la probabilité de coloniser cette niche sera importante. On obtiendrait ainsi à une distance intermédiaire d'isolement phylogénétique une fitness plus élevée favorisant une sortie de niche. La probabilité de spéciation avec utilisation d'une nouvelle niche, pourrait être elle aussi la plus forte en condition intermédiaire : en condition intermédiaire les régimes de sélection pourraient être suffisamment différents et le taux de survie encore suffisamment important. C'est ce que Nyman (2010) appelle le principe intermédiaire (« the intermediacy principle »).

Cependant, l'hypothèse sous jacent d'une diminution de la fitness avec l'isolement phylogénétique n'est pas confirmé. Quand les arbres sont groupés en trois classes d'isolement phylogénétique (i.e. faible, moyen et fort), les résultats obtenus concernant l'indice de croissance moyen ne confirment pas cette hypothèse d'un succès plus élevé en condition d'isolement phylogénétique intermédiaire (voir annexe). En effet, nous n'observons pas de différence significative entre les indices de croissance des groupes d'arbres peu, moyennement et fortement isolés phylogénétiquement. Mais, comme il a été dit plus haut, d'une part l'étude d'arbres plus

nombreux, de mêmes âges et dominant pourraient être nécessaire afin de confirmer nos résultats. D'autre part, des études récentes ont montré que des arbres plantés en mélanges avaient une meilleure croissance (voir Pérot et al. 2011 sur le système pin-chêne). Ces résultats semblent soutenir alors un scénario où une fitness plus élevée serait présente en condition d'isolement phylogénétique important. Pour finir, une disparition de la niche ancestrale ou une détérioration des conditions dans la niche ancestrale, par l'introduction d'un compétiteur supérieur par exemple, pourraient favoriser une sortie de niche.

b.2 Effet de la spécialisation des phytophages et de leurs ennemis

En se basant sur nos résultats, la probabilité pour une plante hôte de quitter sa niche pourrait aussi dépendre de la spécialisation des communautés de phytophages ou de la spécialisation des communautés d'ennemis des phytophages.

Nos résultats montrent que les insectes fortement spécialistes, comme les insectes gallicoles ou les mineuses, ne semblent pas être affectés par l'isolement phylogénétique, à la différence des oligophages (i.e. les lépidoptères ectophages dans notre étude) (voir annexe 1). On peut ainsi imaginer que la probabilité la plus forte de sortie de niche pour une plante hôte sera atteinte lorsque cette dernière sera attaquée par une communauté composée majoritairement de phytophages ni trop spécialistes, ni trop généralistes (voir figure 5). En effet, si les communautés de phytophages sont principalement composées d'espèces fortement spécialistes ou fortement généralistes, ces phytophages pourront avoir la capacité de trouver leurs plantes hôtes, quels que soient leurs environnements phylogénétiques. Les spécialistes trouveraient leurs plantes hôtes grâce à leurs importantes capacités de localisation et/ou de dispersion. Les généralistes, grâce à un régime alimentaire très varié incluant des hôtes phylogénétiquement distants, pourraient utiliser de nombreuses plantes hôtes et avoir une répartition géographique plus large, facilitant aussi la recherche de plantes hôtes. Cependant, cette hypothèse se base sur un postulat important: les phytophages spécialistes, oligophages et généralistes imposent une pression de phytophagie identique sur la plante et affectent négativement sa fitness. De plus, il est à souligner qu'il n'est pas évident d'identifier des phytophages ni trop spécialistes, ni trop généralistes compliquant le test de cette hypothèse. On peut par exemple noter que différentes définitions du terme oligophage existent dans la littérature.

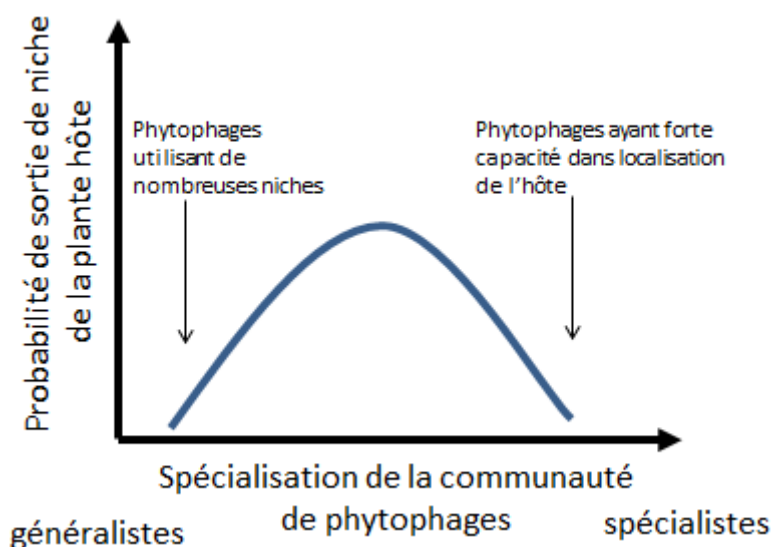


Figure 5. Relation entre la spécialisation des communautés de phytophages et la probabilité de sortie de niche extrapolée à partir de nos résultats. Cette hypothèse se base sur le postulat que les phytophages spécialistes, oligophages et généralistes ont une pression de phytophagie identique sur la plante hôte et affectent négativement sa fitness. Voir dans le texte pour des explications complémentaires.

On peut proposer de même une relation entre la probabilité de sortie de niche d'une plante et la spécialisation de la communauté des ennemis naturels de ses phytophages (voir figure 6). En effet, nos résultats montrent que la pression des ennemis spécialistes sur les phytophages est réduite avec l'isolement phylogénétique de la plante hôte. Une espèce de plante qui profite d'un contrôle de ses phytophages par des ennemis naturels très spécifiques aurait alors un faible intérêt à se retrouver phylogénétiquement isolée dans une nouvelle niche. Ainsi, la probabilité de sortie de niche d'une plante aura tendance à diminuer avec la spécialisation de la communauté des ennemis naturels de ses phytophages. Cette hypothèse se base cette fois sur le postulat que les ennemis généralistes et spécialistes participent de façon équivalente au contrôle top-down des phytophages.

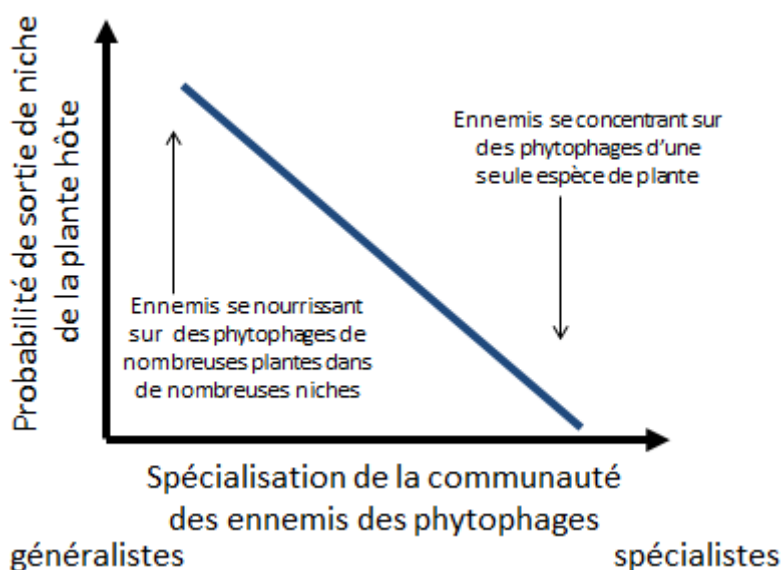


Figure 6. Relation entre la spécialisation de la communauté des ennemis naturels des phytophages et la probabilité de sortie de niche de la plante hôte extrapolée à partir de nos résultats. Cette hypothèse se base sur notre observation que les ennemis plus spécialisés des phytophages sont négativement affectés par l'isolement phylogénétique de la plante hôte, ce qui n'est pas le cas des ennemis plus généralistes, et sur le postulat que les ennemis généralistes et spécialistes participent de façon équivalente au contrôle top-down des phytophages. Voir dans le texte pour des explications complémentaires.

c. Apport pour la sylviculture et perspectives appliquées

Les trois études présentées dans cette thèse peuvent avoir des intérêts pour la sylviculture. En effet, comprendre quel assortiment d'espèces d'arbres améliore la production de bois est une question centrale en sylviculture.

Comme il a été souligné plus haut, l'isolement phylogénétique d'un arbre peut avoir des conséquences à la fois positive et négative. Nous avons ainsi montré que les phytophages à régime alimentaire oligophage étaient affectés négativement par l'isolement phylogénétique de même que le contrôle de ces phytophages par leurs ennemis spécialistes (voir aussi conservatisme d'hôte sur de plus nombreux groupes d'insectes oligophages Winkler et Mitter, 2008). A l'inverse, les phytophages plus spécialisés ainsi que le contrôle des phytophages par des ennemis généralistes n'étaient pas affectés négativement par l'isolement phylogénétique. En réponse à la dégradation des conditions biotiques et abiotiques, on a aussi pu voir que les mutualistes pouvaient aider à la croissance des arbres isolés phylogénétiquement. Ainsi les arbres phylogénétiquement isolés ne semblent pas particulièrement avantagés ou désavantagés par rapport aux arbres non phylogénétiquement isolés. Ce résultat est confirmé par l'absence de différence significative entre les indices de croissance des

arbres en condition « faiblement isolé » et « fortement isolé phylogénétiquement » (Voir annexe 3). Cependant, comme il a été dit plus haut, d'une part l'association de l'étude d'arbres peu nombreux et hétérogènes en termes d'âge, et le choix d'arbres dominés, diminue la qualité de l'étude de leur croissance. Par exemple, l'étude du cemagref dans la forêt domaniale d'Orléans montre d'ailleurs des résultats différents, avec une meilleure productivité des chênes et des pins en mélange (Pérot et al., 2011 ; voir aussi la revue de Richards et al., 2010 et de Cadotte et al., 2008). D'autre part, l'étude d'autres interactions biotiques et facteurs abiotiques telle que la facilitation ou la compétition avec les arbres voisins, de même que l'étude du taux de reproduction des arbres et du taux de survie de ses descendants, pourraient permettre de répondre plus précisément à ces questions.

L'échelle spatiale à laquelle l'isolement phylogénétique agit sur les différentes interactions est de même une question importante pour la sylviculture. En effet, si l'isolement phylogénétique agit à très faible distance, par exemple en prenant en compte seulement les arbres en contact, il sera alors plus difficile d'appliquer cette technique à l'ensemble d'un peuplement. L'utilisation de haie d'espèces phylogénétiquement distantes des parcelles pourrait alors être une solution moins couteuse (e.g. Dulaurent et al., 2012). Nos premières analyses sur la phytophagie révèlent en effet que l'effet de l'isolement phylogénétique agirait plus fortement à une échelle très fine, lors de la prise en compte des espèces voisines en contacts avec le chêne focal (voir aussi Dulaurent et al. 2012 sur l'effet d'une haie d'arbres phylogénétiquement éloignés et sa hauteur sur la colonisation d'un insecte herbivore). Ainsi, l'effet de l'isolement phylogénétique disparaîtrait progressivement à des échelles plus grandes, lors de la prise en compte des espèces voisines dans un rayon de 10, 20 et 30m (voir annexe 3). Ce résultat est aussi en accord avec les résultats de Bommarco et Banks (2003) concernant l'effet de la taille des parcelles diversifiées sur l'intensité de la relation entre diversité des communautés de plantes et abondance des phytophages. Ils suggèrent que les comportements de sélection des insectes herbivores semblent être exprimés plus fortement à une échelle spatiale faible à cause d'une connaissance, chimique ou visuelle, limitée de l'environnement avec la distance (i.e. capacité de traitement ou réception d'informations restreint) ou d'une faible dispersion (Agrawal et al. 2006). Ainsi, la capacité des insectes à « choisir » entre placettes diversifiées et non diversifiées diminuerait à une échelle plus grande. Il est à noter toutefois qu'il faudrait aussi prendre en compte les différences idiosyncratiques entre espèces de phytophages, en particuliers leurs caractéristiques spécifiques liés à leurs mobilités et leurs perceptions des signaux provenant des plantes hôtes (Bommarco et Banks, 2003). Par ailleurs, d'autres chercheurs ont pu observer que des différences importantes de pontes de phytophages existaient à l'échelle inter et intra-parcelle. Plus précisément, des différences de pontes ont été observées non seulement entre mais aussi au sein de parcelles voisines très peu diversifiées et très diversifiées (non publié, cité dans Agrawal et al.

2006). Des études supplémentaires s'intéressant en particulier à la structure et l'échelle spatiale des effets de l'isolement phylogénétique sur les processus d'orientation et de dispersion des phytophages pourraient donc être utiles.

L'échelle phylogénétique peut aussi avoir une influence importante sur nos résultats, autant que des différences idiosyncratiques entre espèces de plantes hôtes. Dans notre étude, nous étudions des différences d'isolement phylogénétique relativement fortes puisque les quatre espèces majoritaires dans la forêt étudiée sont le chêne et le pin (i.e. *Quercus robur/petraea*, et *Pinus sylvestris*), suivies par le hêtre et le sapin (i.e. *Fagus sylvatica*, et *Abies alba*) appartenant à deux clades étant établis depuis plus de 140 millions d'années (i.e. gymnosperme vs angiosperme). Les différences de traits fonctionnels sont donc relativement fortes. Par exemple, très peu d'espèces de lépidoptères sont connues pour avoir réalisées des changements d'hôtes entre ces deux clades (i.e. gymnosperme vs angiosperme ; voir Nyman, 2010 ; Menken et al., 2009). Sur une échelle phylogénétique plus restreinte, le lien entre distance phylogénétique et divergence des traits fonctionnels pourrait être moins fort. D'une part, il existe des espèces de plantes phylogénétiquement proches qui ne conservent pas leurs traits fonctionnelles au cours du temps, et sont par exemple utilisées par des phytophages différents. Ainsi, bien que phylogénétiquement proches, l'association spatiale de ces espèces de plantes pourraient permettre une résistance aux phytophages du fait d'une divergence de leurs traits fonctionnels. D'autre part, des espèces éloignées phylogénétiquement pourraient connaître une convergence de leurs traits fonctionnels, qui les rendrait sensibles aux mêmes espèces de phytophages (voir sélection directionnelle parallèle dans Pearman et al., 2008). L'association de ces espèces augmenterait alors la pression de phytophagie. En d'autres termes, les résultats de notre étude à une échelle phylogénétique très large ne sont peut-être que le reflet de différences fortes des traits fonctionnels entre les lignées étudiées, alors qu'à une échelle phylogénétique moins large la divergence fonctionnelle ne serait pas forcément liée à la divergence phylogénétique (voir Jactel et Brouckhoff, 2007 ; Pearman et al., 2008 ; Cadotte et al., 2008 ; Cadotte et al., 2009). D'une part, il serait donc intéressant d'identifier précisément les traits qui expliqueraient les effets de l'isolement phylogénétique et d'autre part, de savoir s'ils sont conservés ou non, et à quelle échelle phylogénétique. D'autres études avec des assortiments d'espèces différentes, à des échelles phylogénétiques moins importantes pourraient aussi être nécessaires pour préciser nos résultats et pour une application future en sylviculture (e.g. avec une communauté de plante composée seulement d'angiospermes phylogénétiquement proches). En effet, l'approche phylogénie comme proxy du fonctionnement est utile comme première approche mais limitée, et nécessite alors d'être approfondie. Une vérification en cours reliant l'isolement phylogénétique du voisinage avec sa divergence fonctionnelle confirme d'ailleurs

un lien significatif entre ces deux variables pour la concentration en azote des feuilles, la « specific leaf area » (i.e. le ratio de la surface de la feuille sur sa masse sèche), la hauteur maximale de la plante mais pas pour la matière sèche (résultat non présentés). Cependant il est parfois difficile d'avoir accès aux traits qui jouent un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes. Dans notre cas, nous mettons par exemple en avant l'importance des signaux chimiques, émis par la plante hôte, et utilisés par les phytophages pour localiser leurs hôtes. Mais il reste à l'heure actuelle difficile, techniquement et financièrement, de déterminer ces traits. En d'autres termes, les traits qui influencent le plus fortement le fonctionnement des écosystèmes ou le comportement des phytophages, mutualistes et de leurs ennemis peuvent parfois être difficilement identifiables ou difficiles à mesurer. L'information phylogénétique, par contre, peut être une donnée plus intégrative, prenant en compte plus de traits, mais ayant le défaut d'être moins informative concernant les mécanismes en jeu (Cadotte et al., 2009 ; Wiens et al., 2010 ; Mouquet et al., 2012).

d. Perspectives pour les questions d'écologie évolutive

Comme nous l'avons souligné précédemment, plusieurs types d'interactions pouvant fortement influencer la fitness de la plante en condition d'isolement phylogénétique n'ont pas été pris en compte, de même que la quantification de certains traits plus directement liés à la fitness. De plus, nous n'avons presque pas étudié les conséquences évolutives d'une sortie de niche. Dans cette dernière partie, nous proposons diverses questions scientifiques qui pourraient être intéressantes à développer afin de mieux comprendre quelles sont les pressions de sélection qui permettent ou non une sortie de niche, mais aussi de mieux comprendre quelles sont les conséquences écologiques et évolutives d'une sortie de niche.

d.1. Conséquences écologiques non étudiées d'une sortie de niche ancestrale pour le chêne

d.1.1 La compétition

La compétition inter et intra spécifique, contrôlée par gestion sylvicole, a été standardisée par le choix de chênes dominés. Cela nous a permis de nous focaliser sur les interactions biotiques du chêne au sein de la chaîne trophique mais, de ce fait, l'effet de l'isolement phylogénétique sur la compétition n'a pas été étudié. Cependant, la compétition intra ou interspécifique pourrait avoir un effet non négligeable sur la fitness du chêne (e.g. Agrawal, 2000, 2004). Trois hypothèses pourraient être proposées, en fonction de la symétrie de la compétition.

Dans le cas d'une compétition asymétrique, deux cas sont possibles, en fonction des capacités de compétition du voisinage phylogénétiquement éloigné. Si les espèces phylogénétiquement isolées présentes dans la nouvelle niche utilisent les mêmes ressources que le chêne et ont de meilleures capacités de compétition que le chêne, la fitness de ce dernier pourrait être négativement affectée. A l'opposé, la compétition pourrait être moins forte avec les espèces présentes dans la nouvelle niche si celles-ci utilisent des ressources différentes du chêne, ou alors ont des capacités compétitrices moins élevées que le chêne dans la nouvelle niche. La fitness du chêne pourrait alors être positivement affectée. Enfin, une compétition de même intensité que dans la niche ancestrale n'affectera ni négativement ni positivement la fitness du chêne sortant de sa niche.

d.1.2 Production de descendants et survie des stades juvéniles

Dans notre étude nous nous sommes basés sur des arbres adultes dont la fitness n'a été que partiellement étudiée. En effet, seule la phénologie et la croissance ont été mesurées. La fitness, qui correspond à la contribution d'un individu et au maintien des générations suivantes, pourrait être évaluée de manière plus précise par l'étude de la fertilité du chêne et du taux de survie de ses descendants. On pourra alors quantifier la production de glands ainsi que le nombre de glands atteignant un âge donné. Concernant la survie des stades juvéniles, plusieurs hypothèses peuvent être proposées. On peut tout d'abord s'attendre à une augmentation de la survie des stades juvéniles en raison d'une diminution du nombre d'individus conspécifiques ou phylogénétiquement proches diminuant la pression de phytophagie (voir les hypothèses de Janzen-Connell, Janzen, 1970 ; Connell, 1971 ; et de « associational resistance », Atsatt et O'Dowd, 1976). Une compensation de la dégradation des conditions de niche par des ectomycorhizes aurait le même effet. Il pourrait en résulter une augmentation de la fitness du chêne mère via l'augmentation de la survie de ses descendants.

On pourrait aussi observer une diminution de la survie des stades juvéniles en raison de conditions abiotiques et/ou biotiques trop défavorables. Une composition du sol pauvre ainsi qu'une compétition forte pourraient par exemple réduire la survie des plantules et donc la fitness du chêne mère. Enfin, la survie des stades juvéniles pourrait ne pas être affectée, par exemple, par une compensation des effets négatifs par des mécanismes comme ceux décrits ci-dessus.

d.2 Conséquences évolutives non étudiées d'une sortie de niche ancestrale du chêne

Au cours de notre étude, nous avons très peu exploré les conséquences évolutives d'une sortie de niche ancestrale pour le chêne. Cependant, l'isolement phylogénétique des chênes correspond à une nouvelle niche, au moins biotique. Il peut donc entraîner une évolution des individus en réponse aux nouvelles pressions de sélection, et en cas d'isolement reproducteur, peut être conduire à une spéciation. L'effet de l'isolement phylogénétique serait donc comparable à celui de l'isolement spatial qui pourrait être un facteur important dans les stades initiaux de la formation d'une nouvelle espèce (voir la revue de Losos et Ricklefs, 2009).

d.2.1 Evolution des chênes due aux nouvelles pressions de sélection dans la nouvelle niche

Comme nous avons pu le voir dans la première partie, une partie des phytophages n'atteignent pas les arbres phylogénétiquement isolés, ce qui a pour conséquence une diminution de la pression de phytophagie exercée sur ces chênes. Cette diminution de la pression de phytophagie nous amène à émettre une première hypothèse concernant une évolution des chênes phylogénétiquement isolés vers une capacité de compétition accrue (Evolution of increase competitive ability ou EICA, Blossey et Nötzold, 1995). Cette hypothèse se base sur la théorie qu'une plante dispose d'une quantité de ressources limitée qu'elle va utiliser pour croître, se défendre contre ses ennemis et se reproduire. Ainsi, en présence d'une quantité moins importante d'ennemis, la plante devrait pouvoir réallouer les ressources précédemment utilisées pour se défendre vers d'autres composantes de la fitness, telles que la fécondité ou la croissance. Bien que nous n'ayons pas observé une augmentation de la croissance (voir annexe 2), la fécondité pourrait être positivement affectée par l'isolement phylogénétique.

Plus généralement, lors de la phase de colonisation d'un voisinage composé d'espèces phylogénétiquement éloignées, les chênes isolés phylogénétiquement pourraient subir des phénomènes de sélection (e.g. pour une meilleure capacité de dispersion ou pour l'adaptation locale aux nouvelles conditions de niche) ou de dérive génétique (Dlugosch et Parker, 2008). Une fois établis dans cette nouvelle niche, ces chênes semblent connaître de nouvelles pressions de sélection. En effet l'isolement phylogénétique est caractérisé au moins par un changement des interactions biotiques (e.g. diminution de la phytophagie et augmentation de l'intensité des interactions mycorhiziennes), mais probablement aussi par un changement des conditions abiotiques. On peut donc s'attendre à une évolution phénotypique des chênes en conditions d'isolement phylogénétique en réponse aux conditions présentes dans la nouvelle niche (Lee, 2002). Cette évolution pourrait

progressivement aboutir à une différenciation des populations selon leur environnement phylogénétique et peut être à long terme à une spéciation. Cependant, comme le suggère Richter et al. (2012), les arbres pourraient avoir une adaptation génétique lente en raison de leur longue durée de vie. Ainsi, pour aboutir à une spéciation, l'isolement phylogénétique des chênes nécessaire devrait se maintenir sur une très longue période de temps. Une première analyse sur des séquences microsatellites ne montre pas de relation entre génotype et isolement phylogénétique ce qui pourrait indiquer l'absence de phénomène de différenciation génétique par dérive entre chênes isolés et non isolés phylogénétiquement (Résultats non présentés). Néanmoins, cette analyse est peu puissante pour identifier une différenciation génétique. En effet, nos chênes étant séparés de 150m maximum, ils pourraient aisément disperser à cette distance (i.e. dispersion du pollen) et se reproduire entre eux. De plus, nous n'observons ici peut être que la première génération de chênes isolés phylogénétiquement, un début de différenciation devrait être alors difficile à détecter. De même, le faible nombre d'individus associé à un faible nombre de marqueurs pourrait en partie biaiser nos résultats. Une étude sur un plus grand nombre d'individus et/ou de marqueurs pourrait permettre de confirmer ou non nos résultats.

d.2.2 Evolution des phytophages où un chêne isolé phylogénétiquement serait comme une île géographique (diminution de la richesse et de l'abondance)

L'isolement phylogénétique de plantes hôtes, et en particulier d'arbres, pourrait également avoir des conséquences évolutives non négligeables pour les phytophages, en particulier, si on effectue une analogie avec les effets d'un isolement spatial. Notamment, le fait que seulement une partie des phytophages semblent trouver les hôtes phylogénétiquement isolés, que la présence de ces hôtes phylogénétiquement isolés pourrait être relativement longue comparée au temps de génération des insectes et que ces organismes sont de tailles importantes et peuvent fournir des niches différentes, donne à ces plantes hôtes un caractère d'île géographique (voir Janzen, 1978). Ces processus évolutifs pourraient agir à plusieurs moments, au cours de la colonisation des hôtes phylogénétiquement isolés, mais aussi pendant l'établissement et l'expansion (e.g. Keller et Taylor, 2008).

d.2.2.1 Diversité génétique pendant la phase de colonisation

Comme pour les chênes phylogénétiquement isolés, le processus d'introduction peut avoir des conséquences sur la diversité génétique et ainsi sur l'évolution des phytophages colonisateurs des arbres phylogénétiquement isolés. En effet, 2 processus évolutifs peuvent être impliqués, la sélection ou la dérive, ayant des conséquences différentes sur les patrons de diversité inter-îles (i.e. entre arbres phylogénétiquement isolés).

Dans le cas d'une sélection identique sur les phytophages pour atteindre l'ensemble des arbres isolés phylogénétiquement, par exemple sur la capacité de dispersion ou de localisation de l'hôte, on pourrait pendant la phase de colonisation observer une diminution de la diversité intra-île et une diminution de la diversité inter-îles. Une dérive génétique réduirait aussi la diversité intra-île, par les faibles échanges de phytophages vers des arbres isolés, mais le « tirage aléatoire » des individus atteignant des arbres phylogénétiquement isolés augmenterait la diversité inter-îles. Ainsi, chaque arbre ou groupe d'arbres phylogénétiquement isolés devrait être un tirage aléatoire d'individus provenant des chênes non isolés, potentiellement différents à chaque « tirage ». De même, si les pressions de sélection pendant la phase de colonisation diffèrent selon l'importance et la nature de l'isolement phylogénétique (i.e. différentes lignées d'espèces d'hôtes voisins peuvent produire un isolement phylogénétique de même importance mais avec des caractéristiques différentes), on pourrait aussi obtenir une diversité inter-îles plus importante. Au sein d'une espèce de phytophage, la comparaison, de la diversité génétique neutre avec la diversité génétique sous sélection, par l'étude du F_{st} (i.e. variation génétique neutre) et du Q_{st} pour certains traits liés à la fitness (i.e. variation génétique sous sélection) entre populations se trouvant sur des arbres isolés et non isolés phylogénétiquement pourrait nous permettre de savoir quel mécanisme évolutif serait le plus important.

d.2.2.2 Evolution après la phase de colonisation due aux nouvelles conditions de niche

Les individus atteignant les arbres phylogénétiquement isolés seront confrontés à un nouvel environnement. Ce nouvel environnement peut potentiellement entraîner des pressions de sélection nouvelles. En conséquence, ces nouvelles pressions de sélection peuvent produire des évolutions adaptatives chez ces espèces de phytophages, si des populations de ces espèces se maintiennent sur ces arbres hôtes et restent isolées.

Comme nous avons pu le voir pour le chêne, les phytophages qui atteignent les arbres isolés vont connaître une diminution de pression d'une partie de leurs ennemis. On pourrait donc s'attendre à une évolution adaptative de type EICA (voir d.2.1), avec une réallocation des ressources vers des composantes de la fitness qui ne sont pas liées à la défense contre les ennemis, telles que la croissance ou la fécondité.

La diminution du nombre de phytophages sur les chênes isolés phylogénétiquement, liée soit à de faibles capacités de dispersion ou de localisation de certaines espèces de phytophages, soit au

hasard, pourrait aussi entraîner une évolution adaptative des individus atteignant ces chênes grâce à la présence de nouvelles niches vacantes sur ces chênes. En effet, comme toutes les espèces ou les individus n'ont pas de fortes capacités de dispersion ou de localisation, seulement une partie des niches présentes sur les hôtes phylogénétiquement isolés pourraient être occupées, au départ, par les espèces atteignant ces plantes hôtes. Ainsi, une diversification par radiation adaptative (e.g. Pinto et al. 2008), plutôt qu'une colonisation par différentes espèces écologiquement différentes, permettrait l'occupation d'une partie des niches disponibles sur ces hôtes phylogénétiquement isolés (voir Losos et Ricklefs, 2009). Cependant comme le suggèrent Losos et Ricklefs (2009), pour qu'il y ait séparation de lignées ou spéciation, un isolement géographique pourrait être nécessaire (i.e. spéciation allopatrique ou péripatrique). Cet isolement géographique ne pourrait être possible qu'avec une île ayant une surface minimum ou au sein d'archipels formés de petites îles (voir la revue de Losos et Ricklefs, 2009). De plus, un habitat ayant une surface plus grande permet une taille de population plus grande et permet ainsi d'obtenir un plus grand nombre de génotypes sur lesquels la sélection peut jouer. En outre, un habitat ayant une grande surface permettrait de « protéger » les génotypes avantageux (i.e. en diminuant les flux de gènes) d'un effet de dilution à travers les génotypes délétères pouvant freiner l'adaptation à une nouvelle niche (Gavrilets et Vose, 2005). Alternativement, d'autres mécanismes de spéciation non-allopatriques, comme une spéciation le long d'un gradient écologique, seraient possibles mais nécessiteraient de même une surface minimum (Gavrilets et Vose, 2005). Il pourrait être intéressant d'étudier si un arbre phylogénétiquement isolé seul ou un archipel d'arbres isolés phylogénétiquement pourraient alors permettre ces types de spéciation ou au moins de différenciation au sein d'une espèce de phytophages.

Conclusion et perspective générales

Dans cette thèse, nous avons pu montrer que, pour une plante hôte, sortir de sa niche ancestrale et se retrouver entourée de voisins phylogénétiquement éloignés pouvaient modifier fortement l'intensité des interactions ancestrales à plusieurs niveaux de la chaîne trophique. En fonction de la nature de ces interactions, leurs modifications peuvent soit promouvoir une sortie de niche, soit au contraire promouvoir un conservatisme de la niche. Les nouvelles pressions de sélection rencontrées dans la nouvelle niche pourraient potentiellement entraîner une différenciation phénotypique et génétique entre populations d'hôtes isolées et non isolées phylogénétiquement. De même, cela pourrait potentiellement entraîner une différenciation phénotypique et génétique entre populations de phytophages se trouvant sur des hôtes phylogénétiquement isolés et non isolés. Cette thèse a permis de mettre en évidence des premiers indices indiquant que l'isolement phylogénétique de l'hôte pourrait être un élément déclencheur d'une différenciation évolutive et peut être à long terme d'une spéciation chez le chêne mais aussi chez une partie de ses phytophages. Cette différenciation combinée avec une diminution des flux de gènes entre niche ancestrale et nouvelle, pourrait à long terme promouvoir une spéciation. Une investigation plus profonde de la génétique des populations et des variations des traits quantitatifs des hôtes phylogénétiquement isolés ou des populations se trouvant sur des hôtes phylogénétiquement isolés permettrait de confirmer ou non ces hypothèses.

Bibliographie de l'introduction et de la discussion

Atsatt P.R. & Odowd D.J. (1976). Plant defense guilds. *Science*, 193, 24-29.

Agrawal A.A. (2000). Benefits and costs of induced plant defense for *Lepidium virginicum* (Brassicaceae). *Ecology*, 81, 1804-1813.

Agrawal A.A. (2004). Resistance and susceptibility of milkweed: Competition, root herbivory, and plant genetic variation. *Ecology*, 85, 2118-2133.

Agrawal A.A., Lau J.A. & Hamback P.A. (2006). Community heterogeneity and the evolution of interactions between plants and insect herbivores. *Q. Rev. Biol.*, 81, 349-376.

Barbosa P., Hines J., Kaplan I., Martinson H., Szczepaniec A. & Szendrei Z. (2009). Associational Resistance and Associational Susceptibility: Having Right or Wrong Neighbors. In: *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* Annual Reviews Palo Alto, pp. 1-20.

Bartish I.V., Hennekens S., Aidoud A., Hennion F. & Prinzing A. (2010). Species pools along contemporary environmental gradients represent different levels of diversification. *J. Biogeogr.*, 37, 2317-2331.

Basset Y. (1992). Host specificity of arboreal and free-living insect herbivores in rain-forests. *Biol. J. Linnean Soc.*, 47, 115-133.

Bernstein C., Kacelnik A. & Krebs J.R. (1991). Individual decisions and the distribution of predators in a patchy environment .2. The influence of travel costs and structure of the environment. *J. Anim. Ecol.*, 60, 205-225.

Bertheau C., Brockhoff E.G., Roux-Morabito G., Lieutier F. & Jactel H. (2010). Novel insect-tree associations resulting from accidental and intentional biological 'invasions': a meta-analysis of effects on insect fitness. *Ecol. Lett.*, 13, 506-515.

Blossey B. & Notzold R. (1995). Evolution of increased competitive ability in invasive non-indigenous plants - A hypothesis. *J. Ecol.*, 83, 887-889.

Bommarco R. & Banks J.E. (2003). Scale as modifier in vegetation diversity experiments: effects on herbivores and predators. *Oikos*, 102, 440-448.

Brown B.J. & Ewel J.J. (1987). Herbivory in complex and simple tropical succesional ecosystems. *Ecology*, 68, 108-116.

Bruschi P. (2010). Geographical variation in morphology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. as related to drought stress. *Plant Biosyst.*, 144, 298-307.

Cadotte M.W., Cardinale B.J. & Oakley T.H. (2008). Evolutionary history and the effect of biodiversity on plant productivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 105, 17012-17017.

Cadotte M.W., Cavender-Bares J., Tilman D. & Oakley T.H. (2009). Using Phylogenetic, Functional and Trait Diversity to Understand Patterns of Plant Community Productivity. *PLoS One*, 4, 9.

Callaway R. M., Walker L. R., 1997. Competition and facilitation : A synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology* vol. 78 n°7 pp. 1958-1965

Chase J. M. and Leibold M. A. (2003). Ecological Niches: Linking Classical and Contemporary Approaches. University of Chicago Press, Chicago, IL. 221 pp.

Connell, J.H. 1971. On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees. In: Dynamics of Population. Ed. P.J. Den Boer and G.R. Gradwell. Wageningen: Pudoc, pp 298-312.

Dalesman S., Rundle S.D., Bilton D.T. & Cotton P.A. (2007). Phylogenetic relatedness and ecological interactions determine antipredator behavior. *Ecology*, 88, 2462-2467.

Dawson W., Burslem D. & Hulme P.E. (2009). Herbivory is related to taxonomic isolation, but not to invasiveness of tropical alien plants. *Divers. Distrib.*, 15, 141-147.

Dickie I.A., Montgomery R.A., Reich P.B. & Schnitzer S.A. (2007). Physiological and phenological responses of oak seedlings to oak forest soil in the absence of trees. *Tree Physiol.*, 27, 133-140.

Dickie I.A. & Reich P.B. (2005). Ectomycorrhizal fungal communities at forest edges. *J. Ecol.*, 93, 244-255.

Dlugosch K.M. & Parker I.M. (2008). Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Mol. Ecol.*, 17, 431-449.

Duarte L.D.S., Carlucci M.B., Fontana C.S., Hartz S.M. & Pillar V.D. (2011). Plant diaspore traits as indicators of mutualistic interactions in woody vegetation patches developing into a grassland-forest mosaic. *Community Ecol.*, 12, 126-134.

- Dulaurent A.M., Porte A.J., van Halder I., Vetillard F., Menassieu P. & Jactel H. (2012). Hide and seek in forests: colonization by the pine processionary moth is impeded by the presence of nonhost trees. *Agric. For. Entomol.*, 14, 19-27.
- Ghazoul J. (2005). Pollen and seed dispersal among dispersed plants. *Biol. Rev.*, 80, 413-443.
- Gerhold P. and Prinzing A. In prep. Phylogeny alone does not permit to infer community assembly processes.
- Gilbert G.S. & Webb C.O. (2007). Phylogenetic signal in plant pathogen-host range. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104, 4979-4983.
- Gomez J.M., Verdu M. & Perfectti F. (2010). Ecological interactions are evolutionarily conserved across the entire tree of life. *Nature*, 465, 918-U6.
- Gonzalez A., Rayfield B. & Lindo Z. (2011). The disentangled bank: How loss of habitat fragments and disassembles ecological networks. *Am. J. Bot.*, 98, 503-516.
- Gravel D., Massol F., Canard E., Mouillot D. & Mouquet N. (2011). Trophic theory of island biogeography. *Ecol. Lett.*, 14, 1010-1016.
- Gavrilets S. & Vose A. (2005). Dynamic patterns of adaptive radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 102, 18040-18045.
- Grilli G., Urcelay C. & Galetto L. (2012). Forest fragment size and nutrient availability: complex responses of mycorrhizal fungi in native-exotic hosts. *Plant Ecol.*, 213, 155-165.
- Groom M.J. (1998). Allee effects limit population viability of an annual plant. *Am. Nat.*, 151, 487-496.
- Fahrig L. (2003). Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 34, 487-515.
- Harvey P. H. & Pagel M. R. (1991). The comparative method in evolutionary biology. Oxford University Press.
- Hill S.B. & Kotanen P.M. (2009). Evidence that phylogenetically novel non-indigenous plants experience less herbivory. *Oecologia*, 161, 581-590.
- Hill S.B. & Kotanen P.M. (2012). Biotic interactions experienced by a new invader: effects of its close relatives at the community scale. *Botany*, 90, 35-42.

Holt R.D., Lawton J.H., Polis G.A. & Martinez N.D. (1999). Trophic rank and the species-area relationship. *Ecology*, 80, 1495-1504.

Holt R.D. (2009). Bringing the Hutchinsonian niche into the 21st century: Ecological and evolutionary perspectives. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106, 19659-19665.

Holyoak, M, Leibold, M.A., Holt, R.D. (2005) eds, Metacommunities: spatial, dynamics and ecological communities, 520 pp.

Hutchinson G.E. (1957). Population studies- Animal ecology and demography – concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 22, 415-427.

Jactel H., Birgersson G., Andersson S. & Schlyter F. (2011). Non-host volatiles mediate associational resistance to the pine processionary moth. *Oecologia*, 166, 703-711.

Jactel H. & Brockerhoff E.G. (2007). Tree diversity reduces herbivory by forest insects. *Ecol. Lett.*, 10, 835-848.

Jensen J.S. & Hansen J.K. (2010). Genetic variation in responses to different soil water treatments in *Quercus robur* L. *Scand. J. Forest Res.*, 25, 400-411.

Janzen D.H. (1968). Host plant as islands in evolutionary and contemporary time. *Am. Nat.*, 102, 592-595.

Janzen D.H. (1970). HERBIVORES AND THE NUMBER OF TREE SPECIES IN TROPICAL FORESTS. *Am. Nat.*, 104, 501-528.

Jennersten O. (1988). Pollination in *Dianthus-Deltoides* (Caryophyllaceae) - Effects of habitat fragmentation on visitation and seed set. *Conserv. Biol.*, 2, 359-366.

Kambhampati S. & Peterson A.T. (2007). Ecological niche conservation and differentiation in the wood-feeding cockroaches, *Cryptocercus*, in the United States. *Biol. J. Linnean Soc.*, 90, 457-466.

Kawecki T.J. (1995). Demography of source-sink populations and the evolution of ecological niches. *Evol. Ecol.*, 9, 38-44.

Kay M. K. (2008) Are Island forests vulnerable to invasive defoliators ? In *Invasive Forest Insects, Introduced forest Trees, and altered ecosystems*, Chap I. Paine Timothy D. (Ed) Springer. 190 pp.

Keller S.R. & Taylor D.R. (2008). History, chance and adaptation during biological invasion: separating stochastic phenotypic evolution from response to selection. *Ecol. Lett.*, 11, 852-866.

- Kergoat G.J., Silvain J.F., Delobel A., Tuda M. & Anton K.W. (2007). Defining the limits of taxonomic conservatism in host-plant use for phytophagous insects: Molecular systematics and evolution of host-plant associations in the seed-beetle genus *Bruchus* Linnaeus (Coleoptera : Chrysomelidae : Bruchinae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 43, 251-269.
- Komonen A., Penttilä R., Lindgren M. & Hanski I. (2000). Forest fragmentation truncates a food chain based on an old-growth forest bracket fungus. *Oikos*, 90, 119-126.
- Kozak K.H. & Wiens J.J. (2006). Does niche conservatism promote speciation? A case study in North American salamanders. *Evolution*, 60, 2604-2621.
- Kraft N.J.B., Cornwell W.K., Webb C.O. & Ackerly D.D. (2007). Trait evolution, community assembly, and the phylogenetic structure of ecological communities. *Am. Nat.*, 170, 271-283.
- Kursar T.A., Dexter K.G., Lokvam J., Pennington R.T., Richardson J.E., Weber M.G., Murakami E.T., Drake C., McGregor R. & Coley P.D. (2009). The evolution of antiherbivore defenses and their contribution to species coexistence in the tropical tree genus *Inga*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106, 18073-18078.
- Lee C.E. (2002). Evolutionary genetics of invasive species. *Trends Ecol. Evol.*, 17, 386-391.
- Leski T., Pietras M. & Rudawska M. (2010). Ectomycorrhizal fungal communities of pedunculate and sessile oak seedlings from bare-root forest nurseries. *Mycorrhiza*, 20, 179-190.
- Losos J.B., Leal M., Glor R.E., de Queiroz K., Hertz P.E., Schettino L.R., Lara A.C., Jackman T.R. & Larson A. (2003). Niche lability in the evolution of a Caribbean lizard community. *Nature*, 424, 542-545.
- Losos J.B. (2008). Phylogenetic niche conservatism, phylogenetic signal and the relationship between phylogenetic relatedness and ecological similarity among species. *Ecol. Lett.*, 11, 995-1003.
- Losos J.B. & Ricklefs R.E. (2009). Adaptation and diversification on islands. *Nature*, 457, 830-836.
- Lovette I.J. & Hochachka W.M. (2006). Simultaneous effects of phylogenetic niche conservatism and competition on avian community structure. *Ecology*, 87, S14-S28.
- MacArthur, R. H. and Wilson, E. O. (1967). *The Theory of Island Biogeography*. Princeton, N.J.: Princeton University Press.
- Mayfield M.M. & Levine J.M. (2010). Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecol. Lett.*, 13, 1085-1093.

- Menken S.B.J., Boomsma J.J. & van Nieukerken E.J. (2009). Large-scale evolutionary patterns of host plant associations in the Lepidoptera. *Evolution*, 64, 1098-1119.
- Muller J. & GoBner M. (2007). Single host trees in a closed forest canopy matrix: a highly fragmented landscape? *Journal of Applied Entomology*, 131, 613-620.
- Ness J.H., Rollinson E.J. & Whitney K.D. (2011). Phylogenetic distance can predict susceptibility to attack by natural enemies. *Oikos*, 120, 1327-1334.
- Mouquet N., Devictor V., Meynard C.N., Munoz F., Bersier L.F., Chave J., Couteron P., Dalecky A., Fontaine C., Gravel D., Hardy O.J., Jabot F., Lavergne S., Leibold M., Mouillot D., Munkemuller T., Pavoine S., Prinzing A., Rodrigues A.S.L., Rohr R.P., Thebault E. and Thuiller W. (in press) *Ecophylogenetics: advances and perspectives*. Biological Reviews.
- Novotny V., Basset Y., Miller S.E., Weiblen G.D., Bremer B., Cizek L. & Drozd P. (2002). Low host specificity of herbivorous insects in a tropical forest. *Nature*, 416, 841-844.
- Nyman T. (2010). To speciate, or not to speciate? Resource heterogeneity, the subjectivity of similarity, and the macroevolutionary consequences of niche-width shifts in plant-feeding insects. *Biol. Rev.*, 85, 393-411.
- Odegaard F., Diserud O.H. & Ostbye K. (2005). The importance of plant relatedness for host utilization among phytophagous insects. *Ecol. Lett.*, 8, 612-617.
- Parker J.D., Burkepile D.E., Lajeunesse M.J. & Lind E.M. (2012). Phylogenetic isolation increases plant success despite increasing susceptibility to generalist herbivores. *Divers. Distrib.*, 18, 1-9.
- Pearman P.B., Guisan A., Broennimann O. & Randin C.F. (2008). Niche dynamics in space and time. *Trends Ecol. Evol.*, 23, 149-158.
- Pearse I.S. & Hipp A.L. (2009). Phylogenetic and trait similarity to a native species predict herbivory on non-native oaks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106, 18097-18102.
- Pérot T., Deleuze C., Jarret P., Morneau F. (2011) RenDez Vous Technique de l'ONF, n°33-34, pp 11-17.
- Peterson A.T., Soberon J. & Sanchez-Cordero V. (1999). Conservatism of ecological niches in evolutionary time. *Science*, 285, 1265-1267.
- Peterson A.T. (2011). Ecological niche conservatism: a time-structured review of evidence. *J. Biogeogr.*, 38, 817-827.

- Petit R.J., Bodenes C., Ducousso A., Roussel G. & Kremer A. (2004). Hybridization as a mechanism of invasion in oaks. *New Phytol.*, 161, 151-164.
- Pinto G., Mahler D.L., Harmon L.J. & Losos J.B. (2008). Testing the island effect in adaptive radiation: rates and patterns of morphological diversification in Caribbean and mainland *Anolis* lizards. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.*, 275, 2749-2757.
- Prinzing A., Durka W., Klotz S. & Brandl R. (2001). The niche of higher plants: evidence for phylogenetic conservatism. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B-Biol. Sci.*, 268, 2383-2389.
- Prinzing A., Reiffers R., Braakhekke W.G., Hennekens S.M., Tackenberg O., Ozinga W.A., Schaminee J.H.J. & van Groenendael J.M. (2008). Less lineages - more trait variation: phylogenetically clustered plant communities are functionally more diverse. *Ecol. Lett.*, 11, 809-819.
- Richards A.E., Forrester D.I., Bauhus J. & Scherer-Lorenzen M. (2010). The influence of mixed tree plantations on the nutrition of individual species: a review. *Tree Physiol.*, 30, 1192-1208.
- Richter S., Kipfer T., Wohlgemuth T., Guerrero C.C., Ghazoul J. & Moser B. (2012). Phenotypic plasticity facilitates resistance to climate change in a highly variable environment. *Oecologia*, 169, 269-279.
- Ricklefs R.E. & Latham R.E. (1992). Intercontinental correlation of geographic ranges suggests stasis in ecological traits of relict genera of temperate perennial herbs. *Am. Nat.*, 139, 1305-1321.
- Root R.B. (1973). Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats - Fauna of collards (*Brassica-Oleracea*). *Ecol. Monogr.*, 43, 95-120.
- Soberon J. (2007). Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecol. Lett.*, 10, 1115-1123.
- Soberon J. & Nakamura M. (2009). Niches and distributional areas: Concepts, methods, and assumptions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106, 19644-19650.
- Southwood T.R.E., Wint G.R.W., Kennedy C.E.J. & Greenwood S.R. (2004). Seasonality, abundance, species richness and specificity of the phytophagous guild of insects on oak (*Quercus*) canopies. *European Journal of Entomology*, 101, 43-50.
- Stouffer D.B., Sales-Pardo M., Sirer M.I. & Bascompte J. (2012). Evolutionary Conservation of Species' Roles in Food Webs. *Science*, 335, 1489-1492.

- Swenson N.G., Enquist B.J., Thompson J. & Zimmerman J.K. (2007). The influence of spatial and size scale on phylogenetic relatedness in tropical forest communities. *Ecology*, 88, 1770-1780.
- Thompson J.N. (1999). Specific hypotheses on the geographic mosaic of coevolution. *Am. Nat.*, 153, S1-S14.
- Tscharntke T. & Brandl R. (2004). Plant-insect interactions in fragmented landscapes. *Annu. Rev. Entomol.*, 49, 405-430.
- Webb C.O., Ackerly D.D., McPeck M.A. & Donoghue M.J. (2002). Phylogenies and community ecology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 33, 475-505.
- White J.A. & Whitham T.G. (2000). Associational susceptibility of cottonwood to a box elder herbivore. *Ecology*, 81, 1795-1803.
- Wiens J.J. (2004). Speciation and ecology revisited: Phylogenetic niche conservatism and the origin of species. *Evolution*, 58, 193-197.
- Wiens J.J., Ackerly D.D., Allen A.P., Anacker B.L., Buckley L.B., Cornell H.V., Damschen E.I., Davies T.J., Grytnes J.A., Harrison S.P., Hawkins B.A., Holt R.D., McCain C.M. & Stephens P.R. (2010). Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecol. Lett.*, 13, 1310-1324.
- Wiens J.J. & Graham C.H. (2005). Niche conservatism: Integrating evolution, ecology, and conservation biology. In: *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* Annual Reviews Palo Alto, pp. 519-539.
- Winkler, I.S. & Mitter, C. (2008). The phylogenetic dimension of insect /plant interactions: a summary of recent evidence. In: *Specialization, Speciation, and Radiation: The Evolutionary Biology of Herbivorous Insects* (ed. Tilmon, K.). University of California Press, Berkeley, CA, pp. 240–263.
- Zalewski A. & Bartoszewicz M. (2012). Phenotypic variation of an alien species in a new environment: the body size and diet of American mink over time and at local and continental scales. *Biol. J. Linnean Soc.*, 105, 681-693.

Petit glossaire

Adaptation : Changement génétique dans une population résultant de la sélection naturelle, où l'état moyen d'un caractère devient sélectionné au regard de sa fonction spécifique, ou une population devient mieux adaptée à son environnement (Lee, 2002)

Changement de niche : tout changement de position des volumes de la niche réalisée ou fondamentale d'une espèce (Pearman et al., 2008)

Conservatisme phylogénétique de niche : conservation, au cours du temps, de traits écologiques liées à l'occupation d'une niche, entre espèces apparentées (Wiens et al., 2010)

Conservatisme de niche : conservation, au cours du temps, de traits écologiques liées à l'occupation d'une niche (Wiens et al., 2010). Cette définition est plus large que celle du conservatisme phylogénétique de niche.

Dérive génétique : Fluctuation aléatoire de la fréquence d'un allèle, non liée à la sélection naturelle mais liée au tirage aléatoire des gamètes à chaque génération, ou à la rencontre aléatoire des individus lors de la reproduction (Génétique moléculaire et évolutive, Harry, 2001).

Effet fondateur : Lorsqu'il y a fondation d'une nouvelle population, celle-ci portera seulement une partie de la variation ou diversité génétique présente dans la population source, en raison d'une « erreur d'échantillonnage » liée à un faible nombre d'individus (Lee, 2002)

Niche fondamentale : tout ce dont requiert une espèce pour maintenir un taux de croissance positif en ne tenant pas compte des interactions biotiques (Pearman et al., 2008)

Niche réalisée : Portion de la niche fondamentale où une espèce maintient un taux de croissance positif en tenant en compte des effets contraignants des interactions biologiques (i.e. biotiques) tels que la compétition (Pearman et al., 2008)

Plasticité phénotypique : Capacité d'un génotype donné à développer différents états phénotypiques en fonction de l'environnement (Lee, 2002)

Radiation adaptative : diversification d'une espèce colonisant un nouveau territoire qui produit une grande variété d'espèces adaptées à de nombreuses et différentes niches écologiques (e.g. Carlquist, dans *Island biology*, 1974).

Signal phylogénétique : Corrélation négative entre la distance phylogénétique et le taux de similarité entre traits morphologiques ou physiologiques (Losos, 2008)

Spéciation écologique : Spéciation qui résulte de la colonisation d'une nouvelle niche par une partie de la population mère, par sélection de traits adaptatifs différents dans la population mère favorisant la colonisation d'une nouvelle niche et engendrant un isolement reproducteur.

Spéciation peripatrique : Variante de la spéciation allopatrique par effet de fondation. La population se scinde non pas en deux sous ensemble équivalents mais un petit nombre d'individus est isolé de la population initiale soit par une barrière géographique soit par la migration de ce petit nombre d'individus. L'effectif réduit de ces individus va accentuer la différenciation génétique avec la population initiale du fait de la dérive (Génétique moléculaire et évolutive, Harry, 2001).

Spéciation sympatrique : Spéciation sans isolement géographique où la sélection naturelle joue un rôle important.

Annexe de l'introduction et de la discussion

Annexe 1. Effet de l'isolement phylogénétique sur l'abondance des insectes mineurs et gallicoles ainsi que sur l'abondance du psylle *Trioza remota* en 2010 et 2011.

Annexe 2. Effet de l'isolement phylogénétique sur la croissance des arbres

Annexe 3. Effet de l'isolement phylogénétique à 10, 20 et 30m sur la phytophagie 2010 et 2011

Annexe 4. Signature pour autorisation de publication et de soutenance

Annexe 1. Effet de l'isolement phylogénétique sur l'abondance des insectes mineurs et gallicoles ainsi que sur l'abondance du psylle *Trioza remota* en 2010 et 2011.

Matériels et méthode

1. Echantillonnage des insectes mineurs et gallicoles et mesure d'abondance

Les insectes mineurs et gallicoles ont été échantillonnés les 15 septembre 2010 et 2011. En 2010, le psylle *Trioza remota* a aussi été échantillonné. Sur chacun des 22 chênes focaux, 40 feuilles ont été prélevées, 20 d'une strate haute et 20 d'une strate basse, ces strates étant toutes les deux à l'ombre. En 2010, 238 insectes mineurs, 56 insectes gallicoles et 1237 psylles ont été échantillonnés. En 2011, 354 insectes mineurs et 152 insectes gallicoles ont été échantillonnés. L'abondance par feuille a été calculée et utilisée par la suite.

2. Mesure de la richesse spécifique des insectes mineurs et gallicoles

Les insectes mineurs ont été morphotypés en raison d'une forte ressemblance morphologique entre les mines de certaines espèces, tandis que les insectes gallicoles ont été déterminés jusqu'à l'espèce. Cinq espèces et 6 espèces d'insectes gallicoles ont été échantillonnées respectivement en 2010 et 2011, dont *Neuroterus albipes*, *Neuroterus quercusbaccarum*, *Cynips quercusfolii*, *Cynips longiventris*, *Neuroterus numismalis* ainsi qu'une espèce indéterminée. Huit et 12 morphotypes d'insectes mineurs ont été échantillonnés en 2010 et 2011 respectivement. Parmi les morphotypes d'insectes mineurs, certains correspondent aux espèces *Tischeria ekbladella*, *Stigmella ruficapitella*, *Tischeria dodonea*, *Ectoedemia heringi*, *Phyllonorycter roboris*, au genre *Stigmella*, et aux familles Bucculatricidae et Heliozidae. En 2011, nous n'avons pas pu attribuer un morphotype à 23 mines sur 354. Ces 23 individus ont donc été exclus de l'analyse de richesse spécifique.

3. Mesure de l'isolement phylogénétique

L'isolement phylogénétique d'un chêne correspond à la distance phylogénétique moyenne entre le chêne focal et les arbres en contact avec son houppier dont la taille est supérieure à deux mètres. Pour plus de détails concernant les distances phylogénétiques prises en compte, voir partie II de cette thèse.

4. Analyses statistiques

Nous avons étudié l'effet de l'isolement phylogénétique, séparément, sur l'abondance des insectes mineurs et gallicoles en 2010 et 2011, ainsi que sur l'abondance des psylles en 2010, par une analyse de régression linéaire simple. Nous avons utilisé la même méthode pour étudier l'effet de l'isolement phylogénétique sur la richesse des insectes mineurs et gallicoles en 2010 et 2011.

Résultats

En régression linéaire simple, l'isolement phylogénétique n'a pas d'effet significatif sur l'abondance des insectes mineurs ou gallicoles, et sur l'abondance du psylle *Trioza remota* que ce soit en 2010 (respectivement d.d.l.= 20, $t=-0.63$, $p= 0.53$, $r^2= 0.01$; d.d.l.= 20, $t=-0.24$, $p= 0.80$, $r^2= 3*10^{-3}$; et d.d.l.= 20, $t=-0.58$, $p= 0.56$, $r^2= 0.01$; voir figure 1) ou en 2011 (respectivement d.d.l.= 20, $t=-1.70$, $p= 0.10$, $r^2= 0.12$; d.d.l.= 20, $t=-0.20$, $p= 0.83$, $r^2= 2*10^{-3}$; voir figure 2). L'effet de l'isolement phylogénétique sur la richesse spécifique des insectes mineurs et gallicoles n'est pas non plus significatif en 2010 (respectivement d.d.l.= 20, $t=0.10$, $p= 0.91$, $r^2= 5*10^{-4}$; d.d.l.= 20, $t=1.19$, $p= 0.24$, $r^2= 0.06$; voir figure 3) et 2011 (respectivement d.d.l.= 20, $t=0.72$, $p= 0.47$, $r^2= 0.02$; d.d.l.= 20, $t=-0.86$, $p= 0.39$, $r^2= 0.03$; voir figure 4).

Tableaux et figures

Figure 1.

Régression linéaire simple entre l'isolement phylogénétique et l'abondance des insectes mineurs (a), gallicoles (b), ainsi qu'avec l'abondance du psylle *Trioza remota* (c) en 2010. Les statistiques de ces relations sont pour les insectes mineurs d.d.l.= 20, $t=-0.63$, $p= 0.53$, $r^2= 0.01$; pour les insectes gallicoles d.d.l.= 20, $t=-0.24$, $p= 0.80$, $r^2= 3*10^{-3}$; et pour le psylle *Trioza remota* d.d.l.= 20, $t=-0.58$, $p= 0.56$, $r^2= 0.01$.

Figure 1.a.

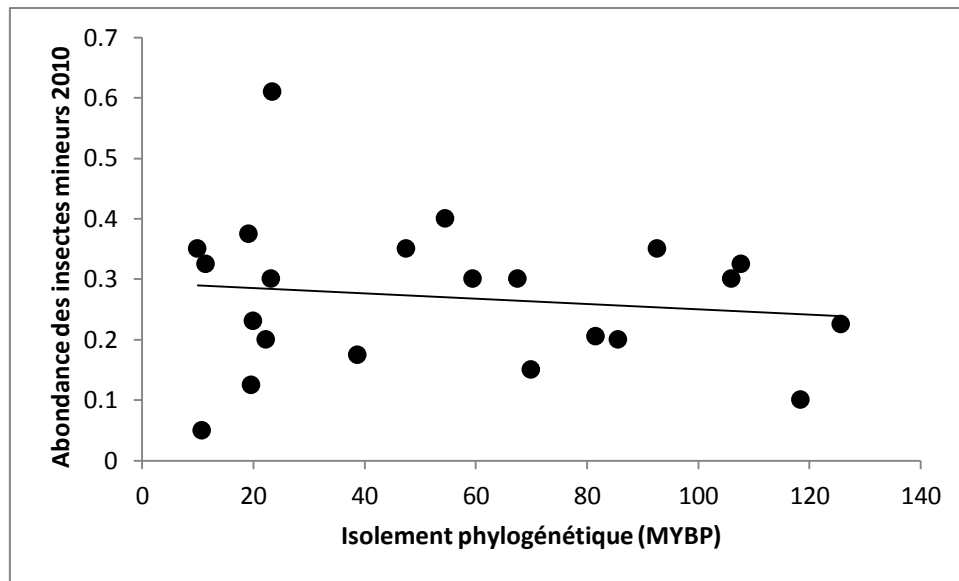


Figure 1.b.

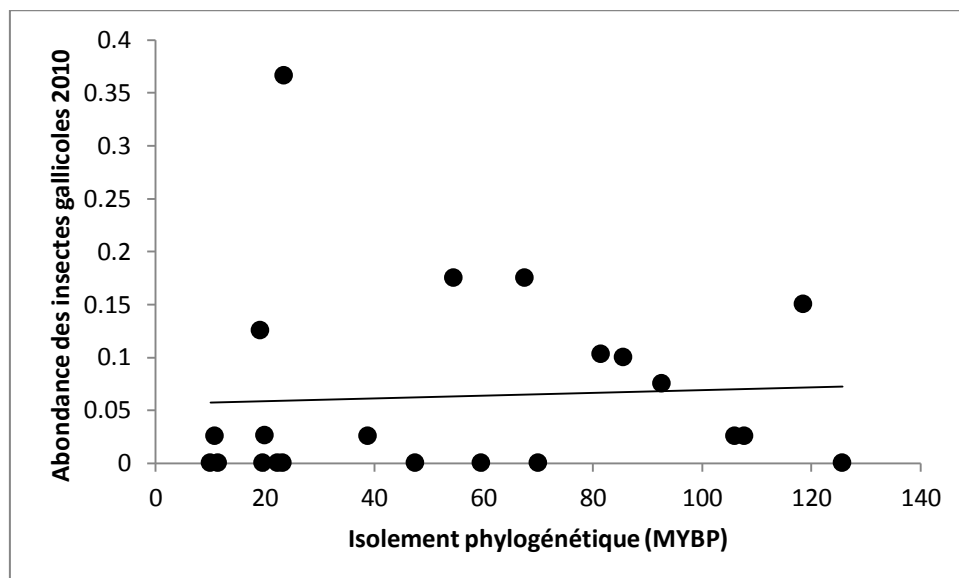


Figure 1.c.

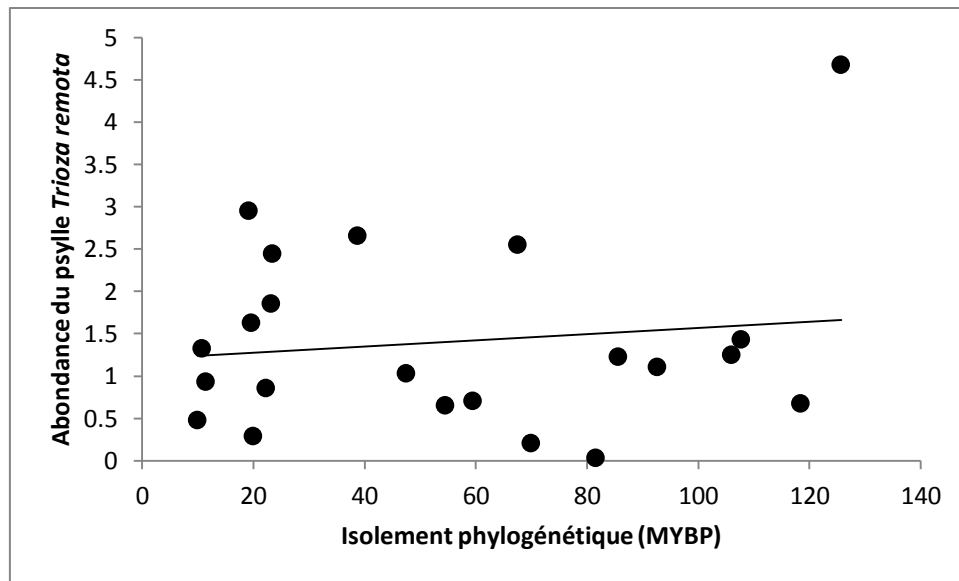


Figure 2.

Régression linéaire simple entre l'isolement phylogénétique et l'abondance des insectes mineurs (a) et gallicoles (b) en 2011. Les statistiques de ces relations sont pour les insectes mineurs d.d.l.= 20, $t=-1.70$, $p=0.10$, $r^2=0.12$; pour les insectes gallicoles d.d.l.= 20, $t=-0.20$, $p=0.83$, $r^2=2*10^{-3}$.

Figure 2.a.

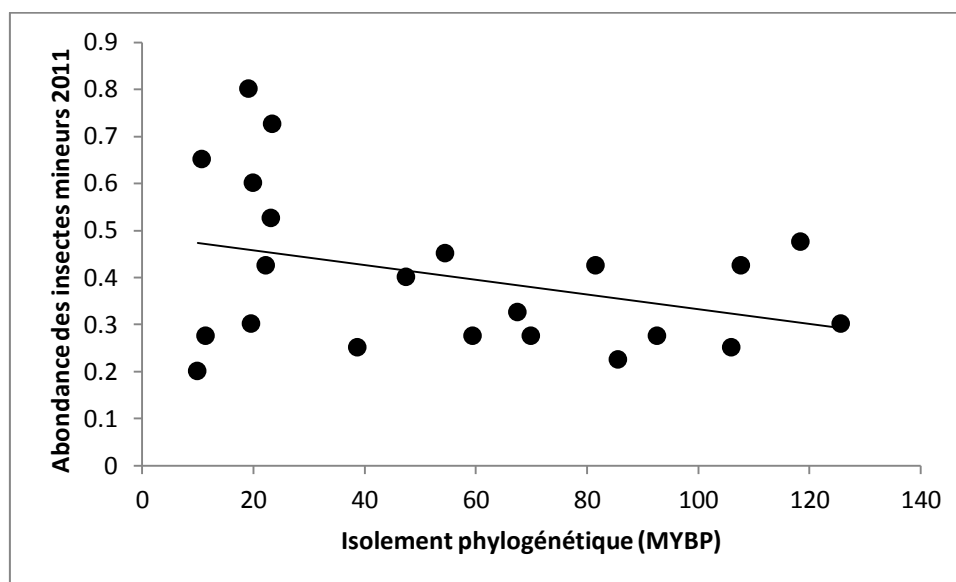


Figure 2.b.

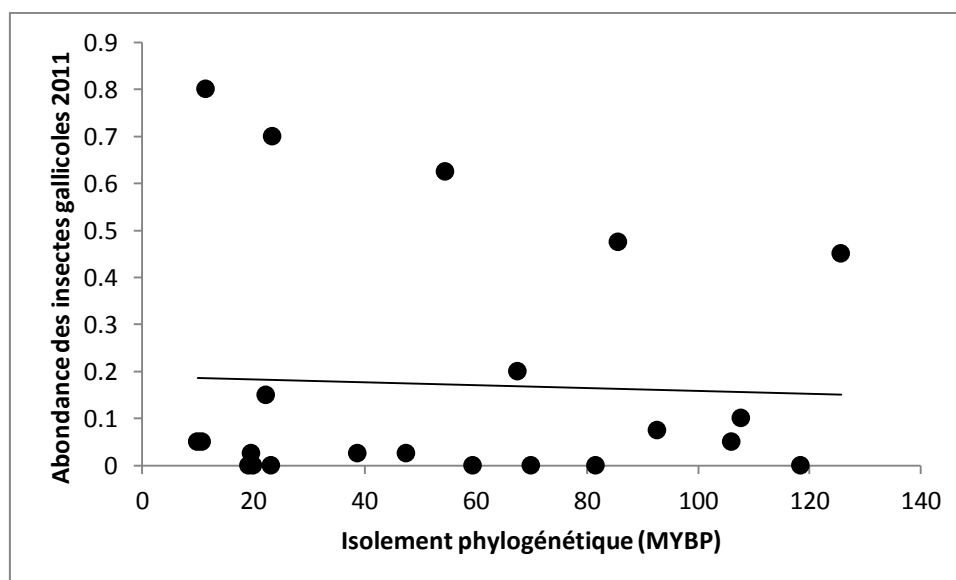


Figure 3.

Régression linéaire simple entre l'isolement phylogénétique et la richesse spécifique des insectes mineurs (a) et gallicoles (b) en 2010. Les statistiques de ces relations sont pour les insectes mineurs d.d.l.= 20, $t=0.10$, $p=0.91$, $r^2=5*10^{-4}$; pour les insectes gallicoles d.d.l.= 20, $t=1.19$, $p=0.24$, $r^2=0.06$.

Figure 3.a.

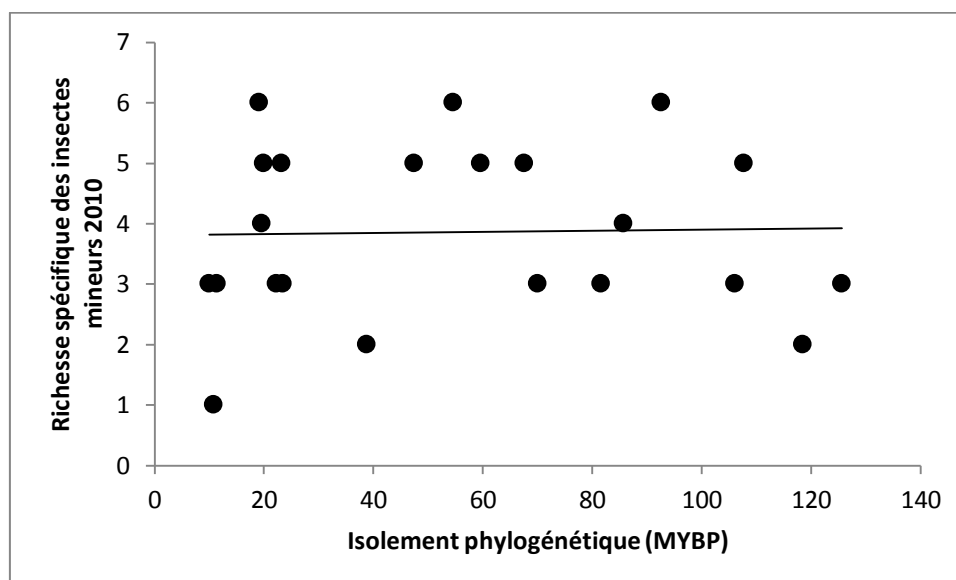


Figure 3.b.

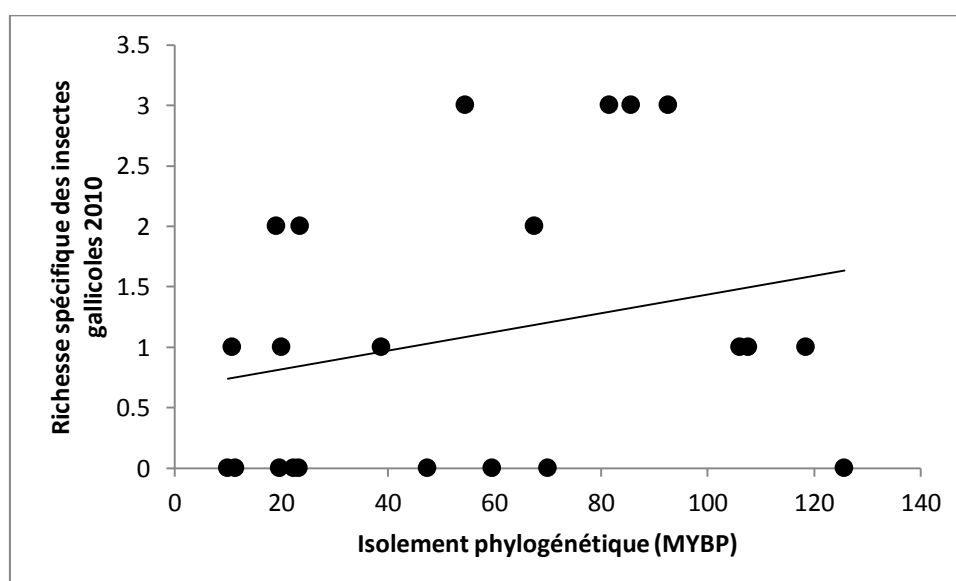


Figure 4.

Régression linéaire simple entre l'isolement phylogénétique et la richesse spécifique des insectes mineurs (a) et gallicoles (b) en 2011. Les statistiques de ces relations sont pour les insectes mineurs d.d.l.= 20, $t=0.72$, $p= 0.47$, $r^2= 0.02$; pour les insectes mineurs d.d.l.= 20, $t=-0.86$, $p= 0.39$, $r^2= 0.03$.

Figure 4.a.

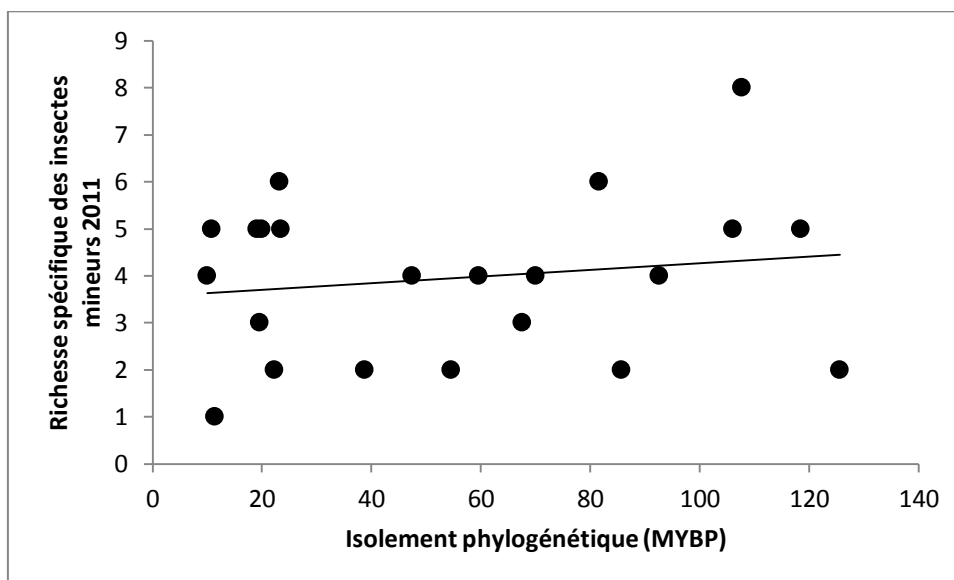
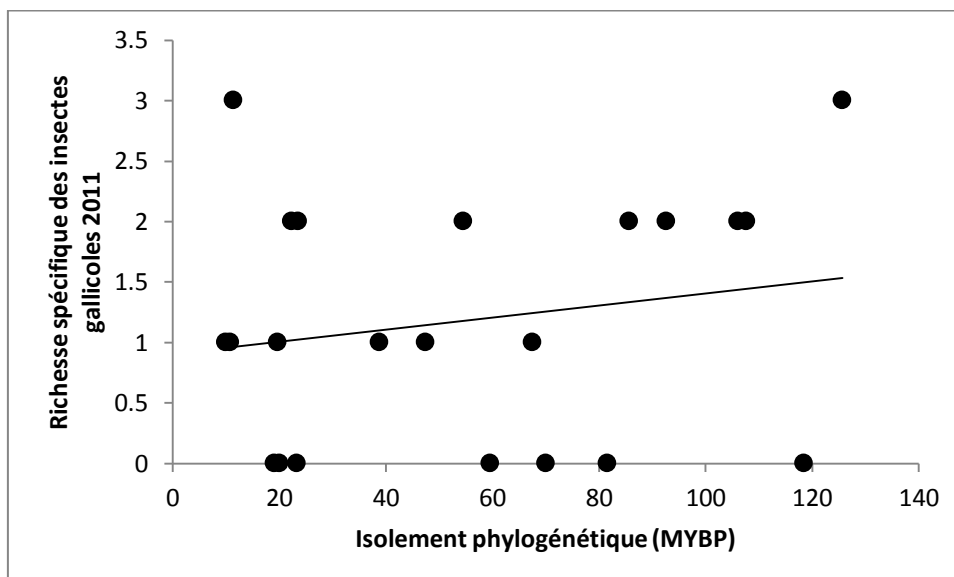


Figure 4.b.



Annexe 2. Effet de l'isolement phylogénétique sur la croissance des arbres

Matériels et méthode

1. Prélèvements des carottes de tronc et analyses des cernes de croissance des chênes étudiés

Toutes les carottes ont été prélevées en novembre 2011, à hauteur de poitrine à l'aide d'une tarière. Les carottes ont été planées perpendiculairement à l'orientation des veines (i.e. pour faire apparaître les cernes de croissance), et scannées afin de pouvoir ensuite annotées les limites de cernes avec le logiciel WINDENDRO. Cette étape peut aussi nécessiter l'aide d'un examen complémentaire de la carotte à la loupe binoculaire. Quand les carottes n'atteignaient pas le cœur de l'arbre, l'âge de chaque arbre a été calculé par la formule suivante : $\text{Age} = \text{nombre de cernes disponible} + (\text{Distance au cœur} / \text{longueur des 5 premiers cernes})$. Pour vérifier l'estimation de l'âge de chaque arbre réalisé à partir des marquages des limites de cernes et de l'estimation de la distance au cœur, une étape supplémentaire d'interdatation a été réalisée. L'interdatation consiste à vérifier les courbes de croissances de chaque arbre avec celles des autres par superposition des différentes courbes de croissance, croisée à l'identification, dans les courbes de températures et de pluviométrie, d'années « caractéristiques ». Ainsi, cette étape permet de supprimer des limites de cernes ajoutées par erreur, et d'ajouter des limites de cernes qui n'étaient pas visible à l'œil nu, notamment quand l'arbre croît faiblement. L'efficacité de cette technique repose sur le nombre d'arbres échantillonnés. Plus le nombre d'arbres est important et plus cette technique permet de diminuer les erreurs d'interdatation.

Une fois ces étapes terminées, nous récupérons les distance en mm inter-cernes que l'on transforme en BAI (« basal area increment ») qui est une première mesure de la croissance par âge cambial (i.e. âge de l'arbre par rapport à hauteur où est effectué la carotte). Mais cette méthode permet de comparer la croissance de différents arbres uniquement à un âge donné et donc ne nous permet pas de moyennner la croissance sur plusieurs années. En effet, la croissance du chêne n'est pas linéaire mais sigmoïdale, plus l'âge de l'arbre est important moins sa croissance est importante. De plus, si les arbres n'ont pas le même âge, ces comparaisons seront en partie biaisées car elles ne prennent pas en compte les effets climatiques. En effet, des arbres d'âges différents ont connu des événements climatiques à des âges différents et qui peuvent fortement influencer la croissance sur plusieurs années. Pour prendre en compte l'effet de l'âge de l'arbre et l'effet du climat sur la croissance, il faut donc transformer les données de croissance « cambiale » (i.e. croissance brut pour chaque âge de l'arbre) en indice de croissance (i.e. croissance pondérée par l'âge) par année

calendaire (i.e. pour prendre en compte l'effet du climat). L'indice de croissance est calculé à partir d'une courbe régionale de croissance. Cette courbe représente la fonction sigmoïdale passant par la moyenne de croissance cambiale à chaque âge de l'ensemble des arbres d'un même site. Encore ici, plus le nombre d'arbre est important plus la courbe régionale de croissance donnera une bonne approximation de la croissance moyenne cambiale par âge, et ainsi de l'indice de croissance. L'indice de croissance, est mesuré en soustrayant, pour un âge donné, la croissance cambiale de chaque arbre à la valeur tirée de la courbe régionale de croissance. On obtient ainsi un indice de croissance par âge cambiale qu'on peut aisément transformer en croissance par année calendaire (e.g. 2010, 2011, etc...), qui nous permet maintenant de moyenner et comparer la croissance de chaque arbre sur une période de temps identique.

Hormis le carottage des arbres, les préparations des carottes ainsi que les mesures de longueur de cernes, et l'exploitation de ces données ont été réalisés sous la direction de Didier Bert, Ingénieur de recherche en dendrochronologie dans l'unité BIOGECO, à l'INRA de Bordeaux, Cestas.

2. Mesure de l'isolement phylogénétique

L'isolement phylogénétique d'un chêne correspond à la distance phylogénétique moyenne entre le chêne focal et les arbres en contact avec son houppier dont la taille est supérieure à 2m. Pour plus de détails concernant les distances phylogénétique prises en compte, voir chapitre II de cette thèse.

3. Analyses statistiques

Plusieurs analyses statistiques ont été réalisées. Nous avons tout d'abord étudié l'effet de l'isolement phylogénétique sur l'indice de croissance moyen des chênes par une analyse de régression linéaire simple. Deux périodes ont été prises en compte : une période de 1974 à 2011, qui correspond à la période maximale où nous avons un indice de croissance pour tous nos arbres, i.e. l'âge du plus jeune des chênes échantillonnés. La 2^{ème} période de 2008 à 2011 correspond, à la période de notre étude où nous supposons que nos arbres ont connu les mêmes conditions de compétition pour la lumière. En raison d'un faible nombre d'individus, nous avons aussi tenté de mettre en évidence un effet de l'isolement phylogénétique sur la croissance en attribuant une « classe » d'isolement phylogénétique à chaque arbre, en utilisant soit 2 classes (i.e. peu isolé phylogénétiquement, 0 à 50 millions d'années, et fortement isolé phylogénétiquement, 50 à 125 millions d'années) soit 3 classes (i.e. faiblement phylogénétiquement isolé, 0 à 35 millions d'années,

moyennement phylogénétiquement isolé, de 35 à 70 millions d'années, et fortement isolé phylogénétiquement, de 70 à 125 millions d'années). Ainsi, nous avons testé l'effet « classe » sur les indices de croissance des chênes focaux, chacun moyenné sur les périodes de 1974 à 2011, et de 2008 à 2011, par des tests de comparaisons d'échantillons. Nous avons utilisé des tests non paramétriques, pour des échantillons indépendants, pour 2 échantillons (i.e. le test U de Mann Withney) et pour plusieurs échantillons (i.e. Anova de Kruskal-Wallis). Enfin, nous avons testé l'effet de la classe d'isolement phylogénétique sur les indices de croissance des chênes focaux, cette fois, en prenant en compte l'indice de croissance de chaque année, par une Anova à mesure répétée. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Statistica Version 9.0 (Statsoft, Maisons-Alfort, France).

Résultats

En régression linéaire simple, l'isolement phylogénétique n'a pas d'effet significatif sur les indices de croissance moyen des chênes que ce soit sur la période 1974 à 2011 ou sur la période 2008 à 2011 (respectivement d.f.= 20, $t=0.38$, $p=0.70$, $r^2=7 \times 10^{-3}$ et d.f.= 20, $t=-0.46$, $p=0.64$, $r^2=0.01$ et voir figure 1).

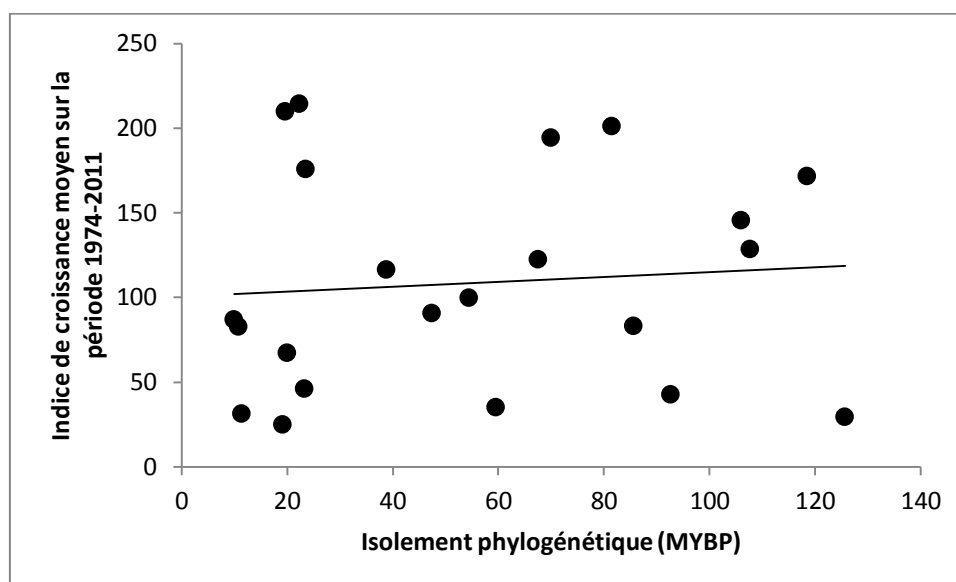
En groupant nos arbres par « classe » d'isolement phylogénétique, nous n'observons pas non plus d'effets significatifs de la classe d'isolement phylogénétique sur les indices de croissance moyen des arbres sur les périodes 1974-2011 ou 2008-2011, groupés en 2 classes, (respectivement, avec le test U de Mann-Whitney, $U=0.54$, $Z=-0.39$, $p=0.69$; et $U=0.60$, $Z<0.01$, $p>0.9$), groupés en 3 classes (respectivement, avec des Anovas de Kruskal Wallis, d.d.l.= 2, $H=0.25$, $p=0.88$; et d.d.l.= 2, $H=0.14$, $p=0.92$). En utilisant les indices de croissance de chaque année pour chaque arbre grâce à des anovas à mesure répétées, l'effet « classe » d'isolement phylogénétique sur les indices de croissance des arbres est de même non significatifs sur la période 1974-2011 (pour 2 classes : d.d.l.= 1, $p=0.67$, $F=0.76$; pour 3 classes : d.d.l.= 2, $p=0.81$, $F=0.56$) et sur la période 2008-2011 (pour 2 classes : d.d.l.= 17, $p=0.53$, $F=0.83$; pour 3 classes : d.d.l.= 32, $p=0.70$, $F=0.68$).

Tableaux et figures

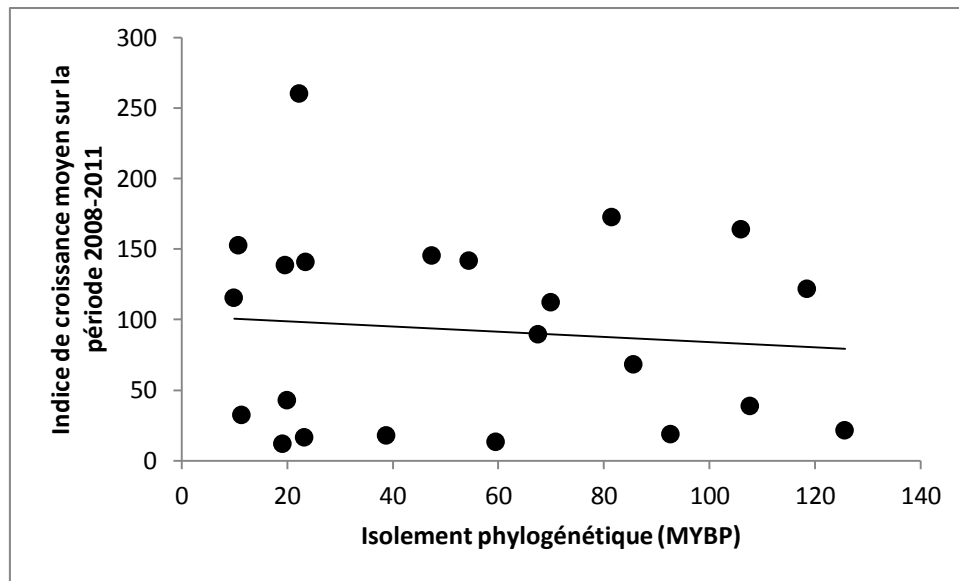
Figure 1.

Régression linéaire simple entre l'isolement phylogénétique et les indices de croissance moyens des chênes sur les périodes 1974-2011 (a) et 2008-2011 (b). Les statistiques de ces relations sont d.f.= 20, $t=0.38$, $p= 0.70$, $r^2= 7*10^{-3}$ pour la période 1974-2011 et d.f.= 20, $t=-0.46$, $p= 0.64$, $r^2= 0.01$ pour la période 2008-2011.

a.



b.



Annexe 3. Effet de l'isolement phylogénétique à 10, 20 et 30m sur la phytophagie 2010 et 2011

Matériels et méthode

1. Mesure du pourcentage de phytophagie

La phytophagie des insectes exophages a été mesurée en 2010 et 2011 sur un prélèvement de feuilles effectué le 15 septembre. La majorité des dégâts sur les feuilles de chêne a lieu avant Aout (Rinker & Lowman 2004, p. 377). En 2010 et 2011, sur chacun des 22 chênes focaux, 40 feuilles ont été prélevées, 20 d'une strate haute et 20 d'une strate basse, ces strates étant toutes les deux à l'ombre. Au cours de ces 2 années, la phytophagie a été mesurée en plaçant chaque feuille de chêne sous une grille transparente avec un quadrillage de 1x1 cm². Le pourcentage de phytophagie a été mesuré en comptant le nombre d'intersections de la grille présents sur la surface de chaque feuille de chêne, rapporté sur le nombre d'intersection totale si cette feuille de chêne avait été complète. La surface totale d'une feuille attaquée a été extrapolée à partir d'une feuille complète de la même taille. Puis nous avons calculé un pourcentage de phytophagie moyen sur les 40 feuilles de chaque arbre.

2. Mesure de l'isolement phylogénétique

L'isolement phylogénétique d'un chêne correspond à la distance phylogénétique moyenne entre le chêne focal et les arbres en contact avec son houppier dont la taille est supérieure à 2m. L'isolement phylogénétique à 10, 20 et 30m correspondent à la même mesure mais au lieu de prendre seulement en compte les arbres en contact avec le houppier, nous avons aussi pris en compte tous les arbres d'une taille supérieure à 2m dans un cercle, ayant pour centre le chêne focal, et de rayon de 10, 20 et 30m. Pour plus de détails concernant les distances phylogénétique prisent en compte, voir chapitre II de cette thèse.

Résultats

La phytophagie diminue de façon significative uniquement avec l'isolement phylogénétique en contact en 2010 et 2011 (respectivement d.d.l.= 20, $t=-3.72$, $p= 1*10^{-3}$, $r^2= 0.41$; d.d.l.= 20, $t=-2.66$, $p= 0.01$, $r^2= 0.26$; voir figure 1 et 2), avec l'isolement phylogénétique à 10m en 2010 et marginalement significativement avec l'isolement phylogénétique à 20m (respectivement d.d.l.= 20, $t=-2.43$, $p= 0.02$, $r^2= 0.22$; d.d.l.= 20, $t=-2.07$, $p= 0.05$, $r^2= 0.17$; voir figure 1). L'effet de l'isolement

phylogénétique sur la phytophagie n'est plus significatif à 10 et 20m en 2011 et à 30m en 2010 et 2011 (respectivement d.d.l.= 20, $t=-0.85$, $p= 0.40$, $r^2= 0.03$; d.d.l.= 20, $t=-0.70$, $p= 0.49$, $r^2= 0.02$; d.d.l.= 20, $t=-1.49$, $p= 0.14$, $r^2= 0.10$; et d.d.l.= 20, $t=-0.70$, $p= 0.48$, $r^2= 0.02$; voir figure 1 et 2). L'effet de l'isolement phylogénétique diminue donc chaque année avec l'augmentation du rayon d'arbres pris en compte.

Tableaux et figures

Figure 1.

Régression linéaire simple entre l'isolement phylogénétique et l'isolement phylogénétique en contact (a), à 10m (b), à 20m (c) et à 30m (d) en 2010. Les statistiques de ces relations sont d.d.l.= 20, $t=-3.72$, $p= 1*10^{-3}$, $r^2= 0.41$ pour l'isolement phylogénétique en contact ; d.d.l.=20, $t=-2.43$, $p= 0.02$, $r^2= 0.22$ pour l'isolement phylogénétique à 10m ; d.d.l.= 20, $t=-2.07$, $p= 0.05$, $r^2= 0.17$ pour l'isolement phylogénétique à 20m ; d.d.l.= 20, $t=-1.49$, $p= 0.14$, $r^2= 0.10$ pour l'isolement phylogénétique à 30m.

Figure 1.a

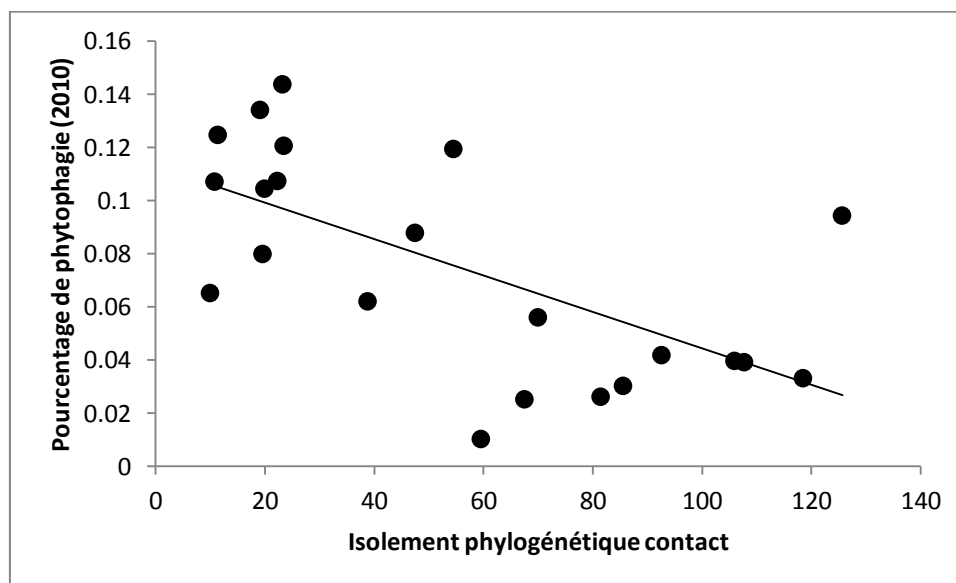


Figure 1.b

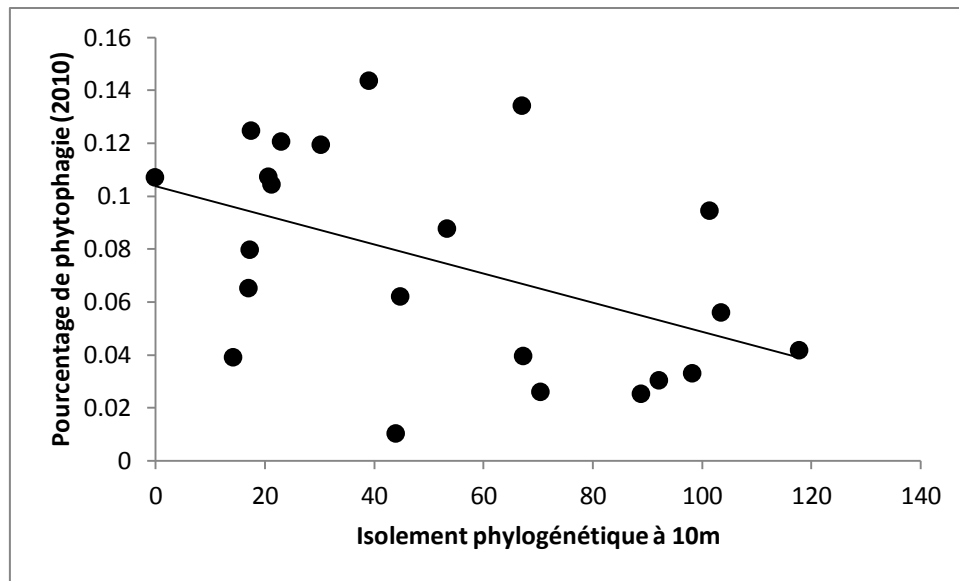


Figure 1.c

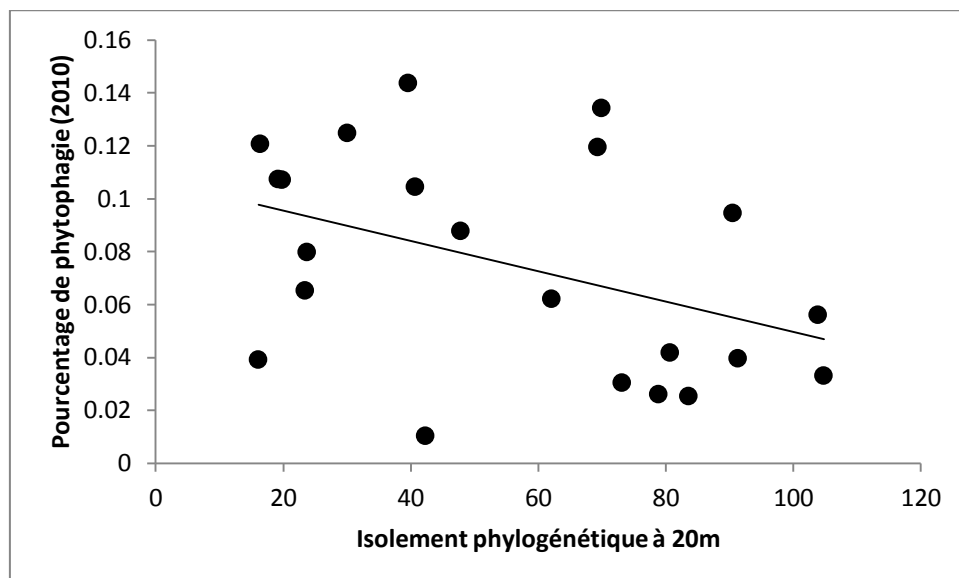


Figure 1.d

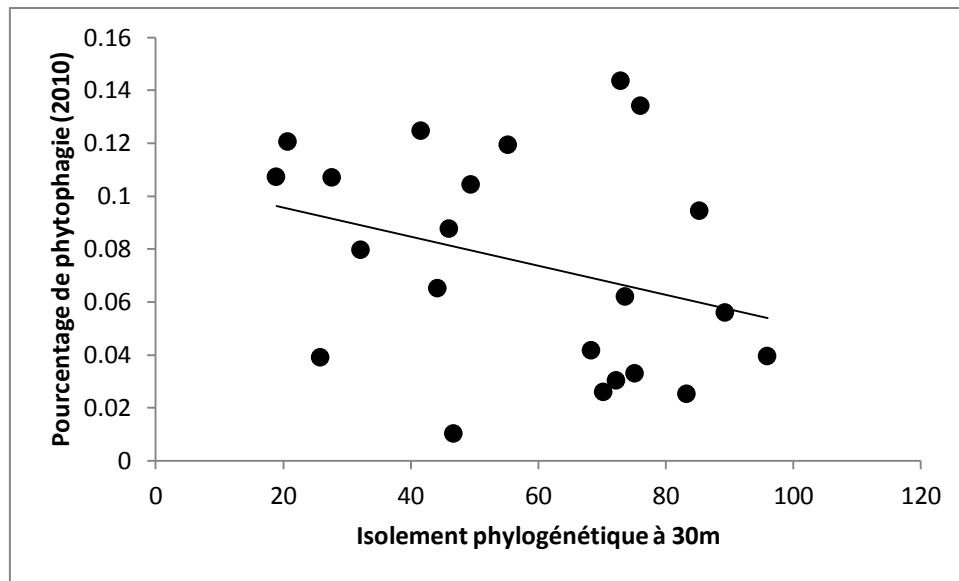


Figure 2.

Régression linéaire simple entre l'isolement phylogénétique et l'isolement phylogénétique en contact (a), à 10m (b), à 20m (c) et à 30m (d) en 2011. Les statistiques de ces relations sont d.d.l.= 20 $t=-2.66$, $p= 0.01$, $r^2= 0.26$ pour l'isolement phylogénétique en contact ; d.d.l.= 20, $t=-0.85$, $p= 0.40$, $r^2= 0.03$ pour l'isolement phylogénétique à 10m ; d.d.l.= 20, $t=-0.70$, $p= 0.49$, $r^2= 0.02$ pour l'isolement phylogénétique à 20m ; d.d.l.= 20, $t=-0.70$, $p= 0.48$, $r^2= 0.02$ pour l'isolement phylogénétique à 30m.

Figure 2.a

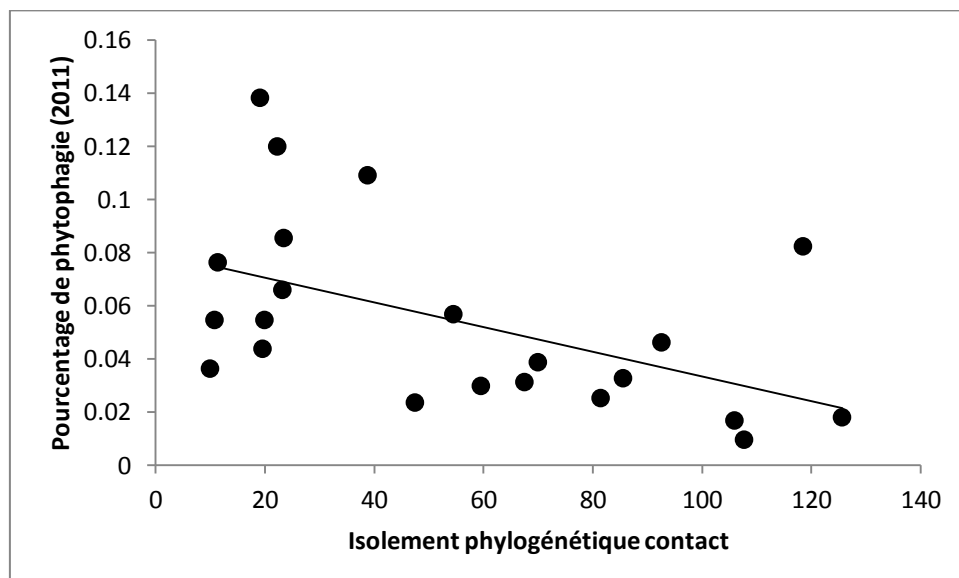


Figure 2.b

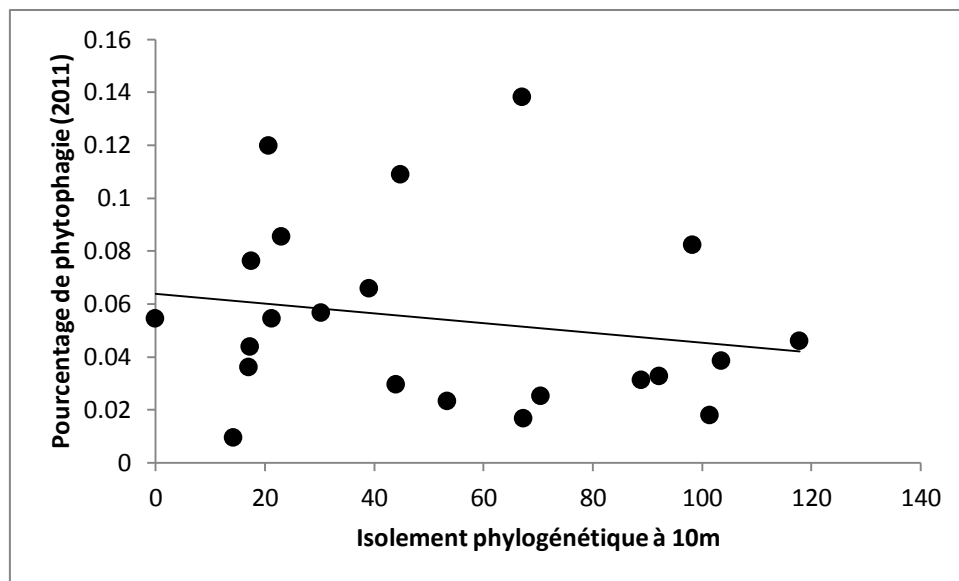


Figure 2.c

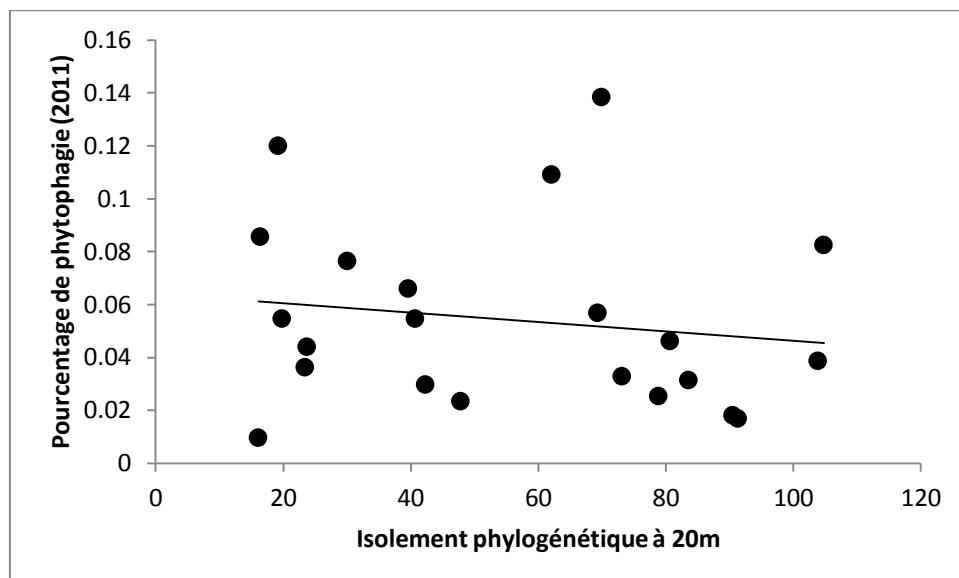
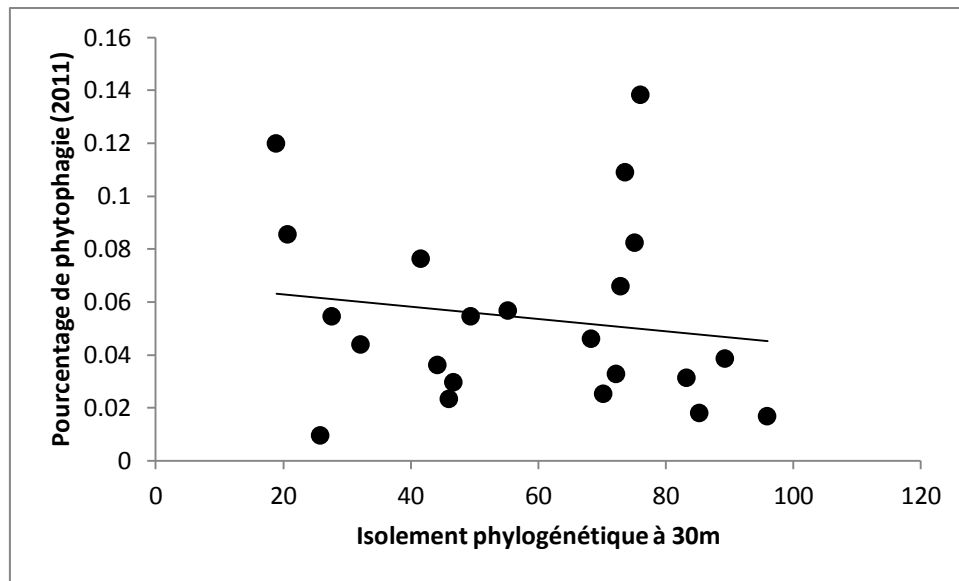


Figure 2.d



Annexe 4 : Signatures pour autorisation de publication et soutenance

VU :

**Le Directeur de Thèse
Doctorale**
(Nom et Prénom)

VU :

Le Responsable de l'École

VU pour autorisation de soutenance

Rennes, le

Le Président de l'Université de Rennes 1

Guy CATHELINEAU

VU après soutenance pour autorisation de publication :

Le Président de Jury,
(Nom et Prénom)